

Surveillance of polyomavirus BK in relation to immunosuppressive therapy in kidney transplantation

Cristina Costa¹, Francesca Sidoti¹, Cinzia Balloco¹, Salvatore Simeone¹, Elsa Piasentin Alessio¹, Giovanni Antonio Touscoz², Maria Messina³, Giuseppe Paolo Segoloni³, Rossana Cavallo¹

¹ Struttura Complessa di Virologia,

² Laboratorio di Fisiopatologia Epatica e Digestiva,

³ Unità Trapianto Rene, AOU San Giovanni Battista, Torino

Key words: Polyomavirus BK, immunosuppressive therapy, kidney transplantation

Sorveglianza del polyomavirus BK nel trapianto di rene in relazione alla terapia immunosoppressiva

SUMMARY

Introduction. Reactivation of polyomavirus BK in kidney transplant recipients has been associated to the development of nephropathy (polyomavirus-associated nephropathy, PVAN), possibly leading to the loss of the transplanted organ. Immunosuppression is the *condicio sine qua non* for the onset of PVAN; however, a lower incidence of BK viremia has been reported with low-level tacrolimus based immunosuppressive protocols in comparison to cyclosporine A. Aim of this study was to compare the two immunosuppressive protocols.

Methods. Virological monitoring of BK was performed in 468 consecutive renal transplant patients over a period of 3 years (2370 urine e 2370 serum specimens): in particular, 1780 specimens from 362 patients treated with tacrolimus and 590 from 106 treated with cyclosporine A.

Results. BK viremia was evidenced in 124 (7.0%) and 12 (2.0%) specimens from 40 (11.0%) and 11 (10.4%) patients treated with tacrolimus and cyclosporine A, respectively; similarly, BK viruria in 289 (16.2%) and 58 (9.8%) specimens from 67 (18.5%) and 27 (25.5%) patients, being the difference of incidence highly significant ($p < 0.0001$) for both viremia and viruria at comparison between specimens and not significant for patients. No case of PVAN was diagnosed at histopathology evaluation.

Conclusions. The incidence of viremia and viruria was similar to that previously reported. Our results evidenced that with low-level tacrolimus-based protocols the overall incidence of reactivation in renal transplant patients is not significantly different and there is no increased risk of PVAN, nevertheless the higher incidence of episodes of reactivation.

INTRODUZIONE

Il polyomavirus BK è un virus ubiquitario a elevata sieroprevalenza che, dopo l'infezione primaria solitamente in età pediatrica, resta in latenza in numerosi siti dell'organismo, in particolare rene e vie urinarie quali siti più rilevanti dal punto di vista epidemiologico. La riattivazione della replicazione può occorrere sia nel soggetto immunocompetente sia nel paziente immunocompromesso con viruria asintomatica. Nel trapianto di rene, in particolare nel primo anno *post*-trapianto, la riattivazione di BK secondaria all'immunosoppressione rappresenta un problema clinico rilevante, potendo causare nefropatia (polyomavirus-associated nephropathy, PVAN; incidenza 1-10%) con rischio di perdita dell'organo trapiantato nel 30-80% dei casi. Alla patogenesi della PVAN concorrono fattori legati al virus, al paziente e all'or-

gano trapiantato stesso, responsabili di riattivazione virale e mancato controllo immunitario della stessa. L'immunosoppressione rappresenta la *condicio sine qua non* per lo sviluppo di PVAN; numerosi studi hanno indagato la correlazione tra regime immunosoppressivo e riattivazione virale (5). Infatti, sebbene il ruolo principale nella patogenesi della riattivazione di BK sia giocato dal livello complessivo di immunosoppressione, piuttosto che di quello di un singolo agente immunosoppressivo, non si può escludere un meccanismo farmaco-specifico. Il ruolo chiave giocato dall'immunosoppressione è anche evidenziato dal fatto che non esiste un trattamento specifico per la PVAN, ma la terapia si basa sull'immunomodulazione del regime immunosoppressivo, provvedimento che si deve attuare preventivamente in caso di valori di viremia suggestivi di rischio di PVAN

Corresponding author: Cristina Costa

SC Virologia U, Azienda Ospedaliero Universitaria San Giovanni Battista di Torino

Via Santena, 9 - 10126 Torino - Tel.: 011 6705630/5640 - Fax: 011 6705648

E-mail: cristina.costa@unito.it; ccosta2@molinette.piemonte.it

($1-1.6 \times 10^4$ copie genomiche/ml siero)(1, 5).

La modulazione dell'immunosoppressione mediante riduzione degli inibitori della calcineurina (CNI) rappresenta la prima linea di intervento.

In particolare, tra i CNI, è stata riportata una minore incidenza di BK viremia in caso di trattamento con basse dosi di tacrolimus *versus* ciclosporina A (4).

È stato inoltre evidenziato che la concentrazione di CNI è critica per l'attivazione della risposta T-cellulare-BKV specifica, potendo quindi spiegare il ridotto controllo della replicazione virale in corso di terapia immunosoppressiva con protocolli basati sull'utilizzo di CNI (3).

In questo studio sono stati posti a confronto diversi protocolli immunosoppressivi in una popolazione di trapiantati renali.

MATERIALI E METODI

Sono stati studiati 468 pazienti consecutivi afferenti all'Unità Trapianto Rene dell'AOU San Giovanni Battista di Torino nell'arco di un periodo di 3 anni. Le principali caratteristiche dei pazienti sono riassunte nella Tabella 1.

In base alla pratica del nostro centro, il monitoraggio virologico di BK è stato effettuato mediante valutazione di viremia e viruria due volte al mese nei primi 3 mesi *post*-trapianto, poi ogni 3 mesi fino al primo anno e successivamente ogni anno; campioni aggiuntivi sono stati valutati in presenza di anomalie della funzionalità renale o in base al giudizio clinico; in totale, sono stati quindi analizzati 2370 campioni di siero e 2370 di urine.

Il monitoraggio è stato effettuato con metodica real-time PCR (Q-BKV, Nanogen Advanced Diagnostic, Milan, Italy; *target*: gene che codifica per antigene large T) utilizzando lo strumento 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystems, Monza, Italy), come descritto in precedenza (1).

Sono stati valutati due differenti tipologie di protocolli immunosoppressivi: a base di tacrolimus (1780 campioni di 362 pazienti; *target through levels* da 10-12 ng/ml nel primo mese *post*-trapianto fino a 4-6 ng/ml in circa la metà dei pazienti e altri livelli nei restanti) *versus* ciclosporina A (590 campioni di 106 pazienti).

Gli steroidi sono stati somministrati al dosaggio iniziale di 20 mg/*die* fino a 5 mg/*die* nell'arco di 3 mesi *post*-trapianto ed eventualmente sospesi. In caso di sospetto rigetto, PVAN o alterata funzionalità renale, i pazienti sono stati sottoposti a biopsia renale con esame istopatologico, come descritto in precedenza (2).

I dati sono riportati come numeri grezzi, percentuali e medie. Per l'analisi statistica, è stato utilizzato il *test* del chi quadro, come appropriato.

È stato considerato significativo un valore di $p < 0.05$.

RISULTATI

I risultati sono riepilogati nella Tabella 2. Complessivamente, BK viremia è stata evidenziata in 124/1780 (7.0%) campioni di siero ottenuti da 40/362 (11.0%) pazienti in trattamento con protocolli immunosoppressivi a base di tacrolimus *versus* 12/590 (2.0%) campioni di 11/106 (10.4%) pazienti in trattamento con protocolli immunosoppressivi a base di ciclosporina A. Analogamente, BK viruria è stata rilevata in 289/1780 (16.2%) campioni di urine di 67/362 (18.5%) pazienti in trattamento con tacrolimus *versus* 58/590 (9.8%) di 27/106 (25.5%) pazienti in trattamento con ciclosporina A.

La differenza di prevalenza di viremia e viruria era altamente significativa ($p < 0.0001$) al confronto tra campioni, mentre non vi era alcuna differenza significativa al confronto tra pazienti.

Il picco di carica virale mediana era di 6×10^3 copie/ml (range, $10^3 - 4 \times 10^6$) per la viremia e di 2×10^5 (range, $10^3 - >5 \times 10^6$) per la viruria. Non è stato diagnosticato alcun caso di PVAN all'esame istopatologico.

DISCUSSIONE

L'insorgenza di riattivazione del polyomavirus BK può rappresentare un rilevante problema nella gestione del paziente sottoposto a trapianto renale in quanto richiede una modulazione dell'immunosoppressione al fine di prevenire il rischio di PVAN con possibile perdita dell'organo trapiantato.

Il monitoraggio virologico della replicazione virale a livello di siero e urine è l'approccio migliore per la sorveglianza del polyomavirus BK. Complessivamente, i risultati del nostro studio consentono alcune conclusioni di carattere generale e circostanziale.

È confermata l'importanza della sorveglianza virologica e di una riduzione *pre-emptive* dell'immunosoppressione al fine di minimizzare il rischio di insorgenza di PVAN.

L'incidenza di viremia e viruria da noi rilevata era simile a quella riportata in precedenza in numerosi studi della letteratura (1) e minore di quella riportata da Geddes e colleghi (4).

Per quanto riguarda il confronto tra due diversi agenti CNI, il nostro studio ha evidenziato che l'incidenza di riattivazione non è significativamente differente (10.4% e 11.0% per viremia e 25.5% e 18.5%, per viruria, rispettivamente nei pazienti trattati con ciclosporina A *versus* tacrolimus), sebbene al confronto tra campioni il numero di episodi di riattivazione sia significativamente maggiore con il tacrolimus.

Nonostante questi dati siano in apparente contrasto con quelli riportati da altri, è da considerare non soltanto il farmaco utilizzato, quanto il livello ematico raggiunto; infatti, nello studio di Geddes e colleghi (4), il tacrolimus è stato utilizzato a basso dosaggio (*target through level*, 2-3 ng/ml).

In conclusione, il monitoraggio della replicazione del polyomavirus BK è uno strumento indispensa-

bile per ottimizzare la gestione del paziente trapiantato di rene, unitamente al monitoraggio dei livelli dei farmaci immunosoppressivi, in particolare i CNI.

Sembra che la concentrazione di CNI sia critica per il controllo della replicazione virale ad opera dei linfociti T (3) e che la riduzione del dosaggio di questi farmaci rappresenti la prima linea di intervento in caso di riattivazione virale.

Tabella 1. *Principali caratteristiche della popolazione studiata. SD, deviazione standard; tac, tacrolimus; S, steroide; MMF, micofenolato mofetil; CyA, ciclosporina A.*

	Popolazione	N = 468
Sesso (M/F)	289/179	
Età media ± DS	55.7 ± 13.2	
Causa del trapianto		
IRC da GN	83	
Nefropatia policistica	80	
Malattia di Berger	46	
Reflusso vescicoureterale o malformazioni congenite	37	
Nefropatia vascolare	34	
Nefropatia diabetica	29	
Nefroangiosclerosi	24	
Nefrolitiasi	20	
Nefrite interstiziale	16	
Pielonefrite cronica	12	
Lupus Erythematosus sistemico	11	
Sindrome emolitico-uremica	7	
Nefropatia tossica	6	
Sindrome di Alport	4	
Altro o sconosciuta	59	
Protocollo immunosoppressivo		
Tac, S, MMF	212	
Tac, S	68	
CyA, S, MMF	42	
CyA, S	30	
CyA, everolimus, S	18	
CyA, MMF	13	
CyA, azatioprina, S	12	
Tac, MMF	8	
Altro	65	

Tabella 2. *Monitoraggio virologico di BK mediante determinazione di viremia e viruria in una popolazione di 468 trapiantati renali.*

	Protocollo con Tacrolimus		Protocollo con ciclosporina A	
	Pazienti (N=362)	Campioni (N= 1780)	Pazienti (N=106)	Campioni (N=590)
Viremia N (%)	40 (11.0%)	124 (7.0%)	11 (10.4%)	12 (2.0%)
Viruria N (%)	67 (18.5%)	289 (16.2%)	27 (25.5%)	58 (9.8%)

BIBLIOGRAFIA

1. Costa C, Bergallo M, Astegiano S, et al. Monitorino of BK virus replication in the first year following renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 3333-6.
2. Costa C, Bergallo M, Sidoti F, Astegiano S, Terlizzi ME, Mazzucco G, Segoloni GP, Cavallo R. Polyomaviruses BK- and JC-DNA quantitation in kidney allograft biopsies. *J Clin Virol* 2009; 44: 20-3.
3. Egli A, Köhli S, Dickenmann M, Hirsch HH. Inhibition of polyomavirus BK-specific T-cells responses by immunosuppressive drugs. *Transplantation* 2010; 88: 1161-8.
4. Geddes CC, Gunson R, Mazonakis E, et al. BK viremia surveillance after kidney transplant: single-center experience during a change from cyclosporine-based to lower-dose tacrolimus-based primary immunosuppression regimen. *Transpl Infect Dis* 2011; 13: 109-16.
5. Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, et al. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations. *Transplantation* 2005; 79: 1277-86.