

INFEZIONE DA *POLYOMAVIRUS* BK E PATOLOGIA CORRELATA DOPO TRAPIANTO RENALE

Fabrizio Ginevri¹, Michela Cioni¹, Angelica Parodi², Niki Zavras³, Patrizia Comoli³

¹U.O.C. di Nefrologia, Dialisi e Trapianto Renale, Istituto G. Gaslini, Genova

²U.O.C. di Nefrologia, Ospedale Presidio di Sestri Levante, Genova

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

Polymavirus BK-associated nephropathy after kidney transplant

Advances in immunosuppression have lowered the acute rejection rates in kidney transplant recipients but have impacted negatively on the viral infection rates. Polyomavirus-associated interstitial nephropathy (PyVAN) affects up to 10% of kidney transplant recipients and can progress to irreversible allograft failure in up to 45% of affected cases. Nowadays, thanks to increased awareness of PyVAN and improved diagnostic techniques, the rate of graft loss has decreased, most markedly in centers with active screening and intervention programs. The diagnosis of PyVAN is made by allograft histology. However, systematic screening by quantitative molecular-genetic techniques allows intervention in the early stages of the disease, before the occurrence of irreversible parenchymal changes. So far, the only proven measure affecting PyVAN progression and outcome is the reduction of immunosuppression. Other therapeutic approaches including cidofovir, leflunomide, fluoroquinolones and intravenous immunoglobulins have been explored, but there is no clinical evidence supporting their efficacy. It has been largely demonstrated that BKV-specific T-cell immunity plays a pivotal role in controlling viral replication and disease progression. For this reason viral-specific T-cell immunity can help in monitoring PyVAN. Protocols of adoptive T-cell transfer based on infusion of BKV-specific T cells are the object of many studies and should be considered an innovative treatment approach for PyVAN.

Conflict of interest: None

Financial support: This project was cofinanced with the following contributions: "Cinque per mille dell'IRPEF - Finanziamento della ricerca sanitaria" of the G. Gaslini Institute, Genoa to FG Current Research Funding, Ministry of Health (contribution for intramural research) of the G. Gaslini Institute, Genoa to FG Fondazione Malattie Renali del Bambino, Genoa to FG and MC Italian Association for Cancer Research (AIRC) to PC; Italian Ministry of Health: Cancer Research Projects [grant numbers RFPS-2006-4-341763 to PC; RFPS-2006-Umbria to PC], and "Progetti Ricerca Finalizzata" to PC.

KEY WORDS:

BKV-specific T-cell immunity, Interstitial nephropathy, Polyomavirus BK, Kidney transplantation

PAROLE CHIAVE:

Immunità T-cellulare BKV specifica, Nefropatia interstiziale, *Polyomavirus* BK, Trapianto renale

Indirizzo degli Autori:

Dr. Fabrizio Ginevri
U.O.C. di Nefrologia, Dialisi e Trapianto Renale
Istituto G. Gaslini
Largo Gaslini 5
16147 Genova
e-mail:
fabrizioginevri@ospedale-gaslini.ge.it

INTRODUZIONE

La maggiore efficacia dei protocolli di terapia immunosoppressiva progressivamente utilizzati per la prevenzione del rigetto dopo trapianto d'organo ha comportato un'aumentata morbilità legata alla patologia

infettiva, con osservazione di nuovi quadri patologici dovuti ad agenti infettivi considerati in passato scarsamente patogeni per l'uomo. Particolare rilevanza ha assunto negli ultimi anni, nei riceventi di trapianto renale, l'infezione da *Polyomavirus*.

Il *Polyomavirus hominis 1*, noto anche come *Polyomavirus* BK (BKV) dalle iniziali del paziente dal quale

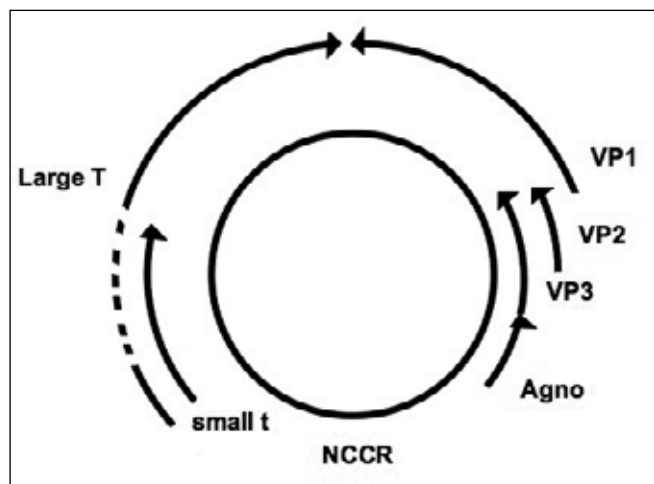


Fig. 1 - Genoma del Polyomavirus BK. *Large-T* e *small-t* costituiscono la regione precoce. *VP1*, *VP2*, *VP3* e *Agno* costituiscono la regione tardiva e *NCCR* costituisce la regione regolatoria non codificante.

è stato isolato per la prima volta nel 1971, è un virus a DNA a doppio filamento della lunghezza di 5-kb, il cui genoma è funzionalmente diviso in tre regioni: la regione precoce, codificante per le proteine regolatorie *small-T* e *Large-T*, la regione tardiva, codificante per le proteine capsidiche *VP1*, *VP2* e *VP3* e per una piccola fosfoproteina denominata agnoproteina, e una regione regolatoria non codificante (*NCCR*) che contiene l'origine della duplicazione del DNA e le sequenze di controllo della trascrizione (Fig. 1).

L'infezione da BKV, solitamente contratta in forma asintomatica, raggiunge una sieroprevalenza nella popolazione adulta pari a circa il 90% (1). Dopo l'infezione primaria, le cellule epiteliali dei tubuli renali e, più in generale, dell'urotelio costituiscono i siti di

latenza e riattivazione del virus (2).

Nei soggetti immunocompromessi (donne in gravidanza, pazienti HIV positivi, pazienti in chemioterapia e riceventi di trapianto di midollo o di organo solido), questa infezione può assumere una rilevanza clinica (3).

Nei pazienti riceventi trapianto renale, l'infezione da BKV, trasmessa dal rene del donatore o conseguente alla riattivazione del virus latente nel ricevente, si associa a diverse manifestazioni cliniche, quali stenosi ureterale, cistite emorragica e insufficienza renale (4). Tra queste, la nefropatia interstiziale associata all'infezione da BKV (PyVAN) è la più comune ed è associata alla possibile perdita del trapianto (5).

Fino agli inizi degli anni '90 la PyVAN era una patologia con una bassa prevalenza (6, 7) ma, in seguito all'utilizzo di strategie immunosoppressive sempre più potenti, è diventata progressivamente più frequente: dopo il trapianto renale, il 30-60% dei riceventi sviluppa una viruria, il 10-20% sviluppa una viremia e il 5-10% sviluppa una PyVAN, con una prevalenza di perdita del graft superiore al 50% (5, 8).

FATTORI DI RISCHIO

L'infezione da BKV e la progressione a PyVAN sono correlate a diversi fattori demografici e clinici (9), pur avendo tali fattori un valore predittivo limitato (10). Si ritiene che lo sviluppo di PyVAN sia il risultato dell'interazione di più fattori di rischio, di cui il principale è rappresentato dal regime di immunosoppressione e altri sono correlati al paziente (p. es., età >50 anni, sesso maschile, sieronegatività BKV), al donatore (sieropositività BKV, *mismatch* HLA, danno ischemico) e alle caratteristiche del virus (p. es., sierotipo, riarrangiamento della regione di controllo non codificante, capacità replicativa) (11-22) (Tab. I).

TABELLA I - FATTORI DI RISCHIO PER L'INFEZIONE DA BKV DOPO TRAPIANTO DI RENE

Fattori di rischio correlati al donatore	Donatore sieropositivo (24)
	Titoli anticorpali BKV alti nel donatore (24)
	N° di <i>mismatch</i> HLA (8, 34)
	Danno ischemico o immunologico (5)
Fattori di rischio correlati al ricevente	Età maggiore di 50 anni (9)
	Sesso maschile (25)
	Ricevente sieronegativo (35)
	Titoli anticorpali BKV bassi nel ricevente (24)
Fattori di rischio correlati al virus	Sierotipo capsidico (11, 17)
	Riarrangiamento di <i>NCCR</i> (16, 18)
	Capacità replicativa (11, 19)
Fattori di rischio correlati alla terapia IS	Terapia di induzione con ATG o alemtuzumab (29)
	Terapia di mantenimento con tacrolimus e MMF (29)

Sebbene non esistano studi controllati che abbiano dimostrato l'effetto di una particolare terapia immunosoppressiva, è idea largamente accettata che l'impiego di protocolli di triplice terapia immunosoppressiva, che includono inibitori delle calcineurine, micofenolato mofetile (MMF) e corticosteroidi, siano maggiormente associati a una replicazione non controllata del *virus* e alla possibile insorgenza di PyVAN. In alcuni studi è stato evidenziato che l'utilizzo di agenti di induzione come l'ATG possa essere associato a un'augmentata incidenza di BKV (23) e come l'utilizzo di tacrolimus piuttosto che di ciclosporina possa portare più frequentemente ad aumentati livelli di viruria o viremia (26, 27).

Al contrario, Geddes et al., in uno studio prospettico su 68 riceventi di trapianto renale, in regime di immunosoppressione con ciclosporina e, poi, variato a regime con basse dosi di tacrolimus, hanno riscontrato una diminuita incidenza di viremia nei pazienti in trattamento con tacrolimus (28).

Darhndarkar et al., in uno studio su 48.292 trapiantati di rene, hanno valutato le caratteristiche di una popolazione di 1474 pazienti che erano stati trattati per infezione da BKV entro 24 mesi dal trapianto. Dallo studio emerge che la maggior parte dei pazienti riceventi trattamento per BKV apparteneva a una fascia d'età compresa tra 0 e 17 anni o >55 anni, era di sesso maschile e di origine afro-americana, riceveva un trapianto da cadavere e presentava un aumentato numero di *mismatch* per HLA-A, -B e -DR. Inoltre, veniva sottolineato il dato che l'infezione da BKV era più frequente nei pazienti che ricevevano il trapianto negli anni più recenti. Per quanto riguarda l'influenza del regime immunosoppressivo, emergeva un aumentato rischio in caso di induzione con ATG o alemtuzumab e in caso di terapia immunosoppressiva di mantenimento con tacrolimus o MMF, mentre

l'utilizzo di inibitori di m-TOR era associato a una minore incidenza cumulativa (29). Tali risultati sono in accordo con l'idea ormai consolidata che l'utilizzo di farmaci altamente immunosoppressivi favorisca l'infezione o la riattivazione di BKV e che il *virus*, in un contesto di risposta immune non efficace, possa replicare in maniera incontrollata e portare all'insorgenza di PyVAN.

DIAGNOSI E MONITORAGGIO DELL'INFEZIONE DA BKV

Diagnosi e quadro istopatologico della nefropatia interstiziale associata a BKV

La diagnosi di certezza di PyVAN si effettua su biopsia renale, con l'evidenza di alterazioni citologiche *virus*-indotte e la dimostrazione della presenza di antigeni virali, rilevati mediante tecniche di immunostochimica, di ibridizzazione *in situ*, di microscopia elettronica e di biologia molecolare. Nella pratica clinica vengono utilizzati anticorpi monoclonali specifici per la proteina virale *Large-T* del *virus* SV40 (omologa del *Large-T* di BKV).

È importante sottolineare che la PyVAN è una patologia focale, quindi l'assenza di segni compatibili con il quadro istopatologico non ne esclude in modo assoluto la presenza e, per tale motivo, si consiglia il prelievo di due *core* biopsici e, nei soggetti a rischio, l'eventuale ripetizione della biopsia (5).

Drachenberg et al. (30) hanno proposto uno schema per la stadiazione istologica di PyVAN (Tab. II). Recentemente, il "Banff Working Group for Polyomavirus Nephropathy" ha proposto una stadiazione istologica che tiene in maggiore considerazione l'estensione del danno degli epitelii tubulari indotto dal *virus*, ma tale schema non si è dimostrato superiore

TABELLA II - ALTERAZIONI ISTOPATOLOGICHE IN CORSO DI PVAN (30)

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.

a quello di Drachenberger in termini prognostici (31, 32). È stato inoltre proposto un sistema di diagnosi di PyVAN non invasivo e basato sulla determinazione di BKV VP1 mRNA a livello delle cellule urinarie. La validazione del metodo è stata condotta su 89 soggetti, di cui 12 affetti da PyVAN, con una sensibilità della metodica pari al 100% e una specificità del 97%. Il limite dell'utilizzo *routinario* di questa metodica è rappresentato dagli aspetti tecnici, quali possibili contaminazioni di DNA o di RNA provenienti da fonti differenti dalle cellule urinarie (33).

Monitoraggio della replicazione virale di BKV

Una caratteristica comune a tutti i pazienti a rischio di PyVAN è la presenza di replicazione virale attiva. Sono stati proposti diversi metodi diagnostici per definire la riattivazione di BKV e per monitorarne l'andamento clinico, come esami citologici urinari, analisi di urine in microscopia elettronica e rilevazione di DNA o RNA virale su campioni di urine, plasma o siero (5, 34-38).

La presenza di *decoy-cell* nelle urine di pazienti affetti da PyVAN è stata ampiamente valutata, ma il suo valore predittivo è basso (7, 30, 39-41). Lo *shedding* urinario di BKV è un fenomeno che è presente in larga percentuale anche negli individui sani (1, 34) e solo risultati citologici quantitativi possono essere utili come strumento diagnostico di *routine*; inoltre, pur avendo il vantaggio di essere una metodica a basso costo (42), non distingue tra i diversi tipi di *Polyomavirus* e richiede una certa esperienza dell'operatore, limitandone, così, l'uso. Al contrario, l'analisi quantitativa della carica virale di BKV su urine e sangue mediante PCR è un metodo più specifico e più facile da standardizzare; molti studi negli ultimi anni ne hanno esaminato il valore predittivo per la diagnosi di PyVAN. I risultati ottenuti indicano che una carica virale urinaria bassa o intermedia può presentarsi anche in assenza di viremia, ma la presenza di viremia è quasi sempre associata e preceduta da viruria, con una sensibilità e una specificità pari al 100% e all'88% (23, 26, 34-36, 43-45). La positività della viruria può essere rilevata già diverse settimane prima della viremia, la quale, a sua volta, precede l'insorgenza di PyVAN (26, 34, 36). È stato però dimostrato in uno studio condotto da Funk che la replicazione virale urinaria e quella plasmatica avvengono in diversi compartimenti; in particolare la carica virurica è data per il 90% dalla replicazione locale del *virus* a livello dell'urotelio e non sempre è seguita da una fase viremica. Inoltre, dall'analisi prospettica di campioni di plasma e urine, è stato osservato un incremento o un decremento consensuale di viruria e viremia

solo nel 64% dei casi. Infine, grazie all'analisi del riarrangiamento della regione di controllo non codificante (NCCR), è stato possibile dimostrare come, a livello plasmatico e urinario, siano presenti diffe-renti varianti genetiche del *virus*, provenienti quindi da diversi siti di replicazione. Tali risultati dimostrano che lo *screening* urinario non è sufficiente come *marker* predittivo di PyVAN, ma è necessaria la valutazione della replicazione virale plasmatica (46).

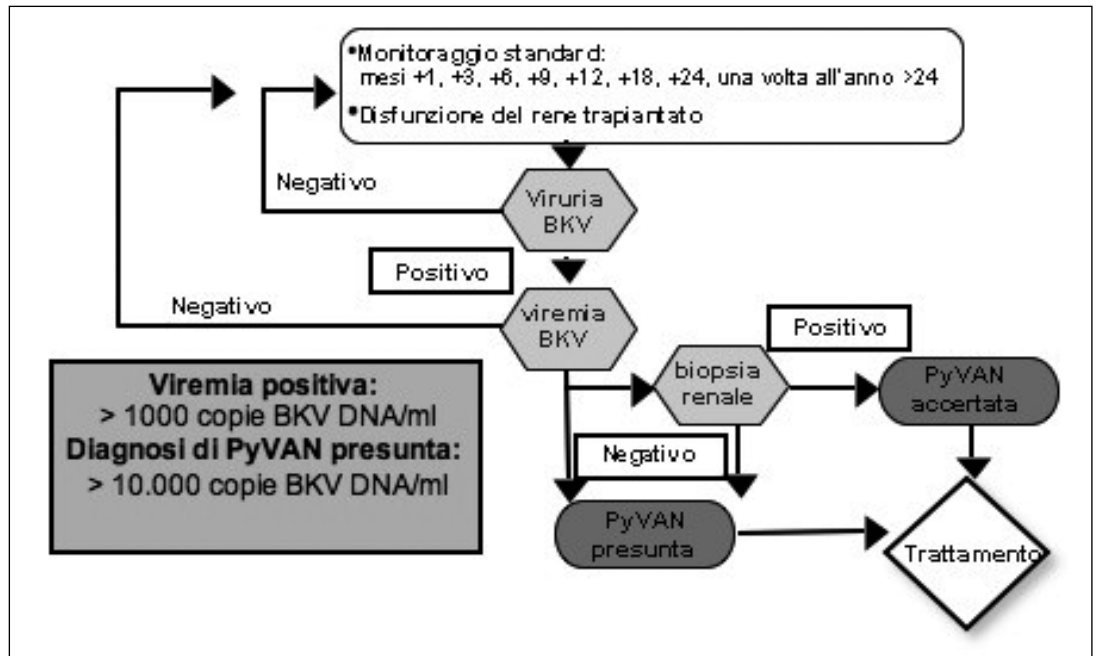
La limitazione del monitoraggio con tecnica PCR è rappresentata dalla differenza tra le soglie diagnostiche con possibili diverse interpretazioni dei risultati. La maggior parte degli studi riporta come *cut off* di rischio di sviluppo di PyVAN valori ≥ 10.000 copie/mL su sangue e $\geq 10.000.000$ copie/mL su urine (5, 23, 45, 47).

Dimostrato che la tecnica più adeguata per il monitoraggio della replicazione virale è la PCR su plasma, ulteriori studi hanno valutato i tempi ai quali effettuare il campionamento. È noto che la riattivazione virale avviene nella maggior parte dei pazienti entro l'anno dopo il trapianto, con un picco a tre mesi (47-49) e, in accordo con le cinetiche di infezione da BKV, sono state pubblicate nel 2009 le Linee Guida dalla *Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO)*, secondo le quali è consigliato eseguire lo *screening* su siero o plasma mensilmente nei primi tre/sei mesi post trapianto e ogni tre mesi fino al raggiungimento del primo anno post trapianto; inoltre i pazienti dovrebbero essere testati per viremia in caso di aumento non spiegabile di creatinina sierica e dopo un trattamento per rigetto acuto (50).

Monitoraggio dell'immunità BKV specifica

Molti studi hanno dimostrato come l'*outcome* dell'infezione da BKV dipenda in gran parte dall'efficacia della risposta antivirale del paziente. Nei primi mesi post trapianto, quando la terapia immunosoppressiva è elevata, la replicazione di BKV non riesce a essere contrastata da un'appropriata risposta immu-ne e il *virus* può replicare in maniera incontrollata, causando danni all'organo trapiantato. È stato evidenziato il ruolo cruciale dell'immunosorveglianza T-cellulare nel controllo della replicazione di BKV: nei pazienti con attiva replicazione virale, la risposta T cellulare verso le proteine di BKV VP1 e *Large-T* era significativamente ridotta rispetto ai pazienti controllo e tale risposta immune presentava un significativo incremento in concomitanza con la *clearance* virale, rendendo il monitoraggio della risposta cellulare BKV specifica uno strumento predittivo per l'evoluzione verso PyVAN (51-57). In particolare è stato dimostrato come una risposta efficace T-cellulare specifica

Fig. 2 - Programma di monitoraggio dell'infezione da Polyomavirus BK attualmente in uso presso l'UOC di Nefrologia dell'Istituto G. Gaslini.



per *Large-T*, ma non per VP1 (valutata come produzione di $\text{INF}\gamma$ e capacità citotossica), sia in grado di controllare la replicazione virale (58).

In due recenti studi emerge che i linfociti T responsabili della risposta immune efficace nel controllare la replicazione BKV sembrano essere diretti non solo verso *Large-T* e VP1, ma anche verso le altre proteine capsidiche VP2 e VP3 e verso la proteina regolatoria *small-T*. Inoltre, tali linfociti sembrano essere caratterizzati dalla capacità di produrre sia $\text{INF}\gamma$ che IL-2 e $\text{TNF}\alpha$ (54, 59, 60), anche se tali caratteristiche sono in contrasto con un lavoro pubblicato da Abend et al., secondo il quale solo $\text{INF}\gamma$, ma non $\text{TNF}\alpha$, avrebbe un effetto inibitorio sulla replicazione di BKV (61).

L'importanza della risposta T-cellulare è stata confermata anche da un recente lavoro in cui è stato osservato che un deficit di cellule dendritiche e quindi una diminuita presentazione degli antigeni virali alle cellule T era associato all'insorgenza di BKV viremia e PyVAN (62). Al contrario, l'immunità umorale sembra non proteggere i pazienti dalla riattivazione virale e dallo sviluppo di PyVAN (34, 63).

PREVENZIONE E TRATTAMENTO DI PyVAN

Protocolli di riduzione dell'immunosoppressione

L'approccio terapeutico in un paziente con nefropatia da BKV non è ancora definito in modo chiaro e univoco. A oggi non sono disponibili farmaci antivirali

con provata efficacia clinica verso BKV e l'intervento terapeutico di scelta è la riduzione della terapia immunosoppressiva di mantenimento (5, 64, 65).

Poiché il trattamento della malattia in fase conclamata si associa spesso a un *outcome* sfavorevole del trapianto, è importante intervenire monitorando la viremia e, possibilmente, la risposta T-cellulare BKV specifica; infatti la persistenza di positività della carica virale nel sangue e la concomitante mancanza di risposta immune T-cellulare BKV specifica sono fattori predittivi per lo sviluppo di PyVAN.

La sola riduzione dei dosaggi dei farmaci immunosoppressivi si è dimostrata sufficiente in molti casi a ottenere la *clearance* della viremia nell'arco di qualche settimana e a stabilizzare la funzione renale. Scegliere come e quando intervenire modificando la terapia non è semplice e richiede un'attenta valutazione delle caratteristiche del paziente stesso e del rischio di rigetto acuto che un'eccessiva riduzione dell'immunosoppressione comporta (5).

In uno studio condotto dal nostro gruppo sono stati dimostrati il successo di un programma di monitoraggio dell'infezione da BKV (Fig. 2) e il conseguente intervento preventivo in una coorte di 62 riceventi pediatrici di trapianto di rene. I livelli di BKV DNA sono stati monitorati ogni tre mesi fino al primo anno post trapianto, poi a 18 e a 24 mesi e, in seguito, una volta all'anno. In caso di positività confermata su plasma, veniva effettuata una biopsia renale e, in caso di assenza di PyVAN conclamata, veniva attuato il protocollo di riduzione dell'immunosoppressione. Il trattamento consisteva

inizialmente in una riduzione del farmaco inibitore delle calcineurine e, in seguito, nella riduzione ed eventualmente nella sospensione del micofenolato. In questo modo abbiamo ottenuto una *clearance* virale in tutti i pazienti trattati dopo un tempo medio di 2 mesi (*range* 1-8), senza episodi di rigetto acuto né perdite di rene correlate a BKV (53).

Gli stessi risultati sono stati ottenuti da Brennan et al. in uno studio randomizzato su 200 riceventi adulti di trapianto renale, in cui il monitoraggio dell'infezione avveniva tramite determinazione di BKV DNA su plasma e urine pre trapianto e poi a tempi stabiliti fino a un anno post trapianto. Il protocollo di riduzione di immunosoppressione utilizzato sui 23 pazienti viremici consisteva nella sospensione del terzo farmaco e nell'eventuale successiva riduzione dell'inibitore delle calcineurine. Con tale trattamento in 22 pazienti su 23 si otteneva la *clearance* della viremia a un tempo medio di 54 giorni in assenza di episodi di rigetto acuto (26).

Dopo queste prime esperienze, ulteriori studi hanno confermato l'efficacia della strategia di riduzione dell'immunosoppressione nell'ottenere la *clearance* della viremia e nell'evitare la progressione del danno renale (66-68).

La maggior parte dei dati è stata finora ottenuta da coorti osservate nel breve e nel medio periodo e non fornisce indicazioni in merito all'effetto a lungo termine della riduzione dell'immunosoppressione.

Hardinger et al. hanno rivalutato a distanza di cinque anni la coorte di pazienti studiati da Brennan et al. nel 2005, evidenziando come la riduzione della terapia immunosoppressiva nei pazienti viremici fosse associata a un'eccellente *graft survival* nel lungo termine (69).

Nella nostra esperienza, a un *follow-up* mediano di 6 anni dal trapianto, la sopravvivenza del rene trapiantato e la funzione renale non erano diverse tra i pazienti viremici che erano stati sottoposti a riduzione dell'immunosoppressione e i pazienti che non avevano riattivato BKV.

Terapie antivirali e nuove prospettive terapeutiche

L'utilizzo di diversi farmaci in concomitanza con protocolli di riduzione dell'immunosoppressione è stato ampiamente esplorato negli ultimi anni, ma i risultati ottenuti sono ancora controversi e oggetto di dibattito.

Una recente meta-analisi ha valutato i risultati ottenuti da 40 studi che esaminavano l'effetto della riduzione dell'immunosoppressione da sola o in combinazione con cidofovir, leflunomide, IVIg o ciprofloxacina in pazienti con infezione da BKV e/o PyVAN e concludeva che nessuno dei trattamenti

farmacologici utilizzati migliorava in modo significativo l'*outcome* del trapianto (70).

Il cidofovir è un analogo della citosina attivo contro con un'ampia gamma di *virus* a DNA ed è utilizzato per il trattamento della retinite da CMV in pazienti affetti da AIDS e per il trattamento di infezioni da CMV resistente a ganciclovir.

Nonostante la scarsa evidenza di dati clinici, in uno studio condotto *in vitro*, è stato osservato che il cidofovir è in grado di inibire la replicazione virale in cellule tubulari renali infettate con BKV (71). Dai risultati ottenuti finora non sono stati dimostrati effetti significativamente favorevoli in termini di *graft survival*, a fronte di un elevato rischio di nefrotossicità (72-78).

La leflunomide agisce inibendo la sintesi *de novo* delle pirimidine, in particolare nei linfociti attivati, con effetti dimostrati *in vitro* sulla replicazione del DNA di BKV a livello dell'assemblaggio e del rilascio del virione (79). La posologia utilizzata in letteratura prevede una dose di carico di 100 mg/*die* per cinque giorni, seguita da una somministrazione giornaliera di 20 mg fino a un massimo di 40 mg/*die* con livelli plasmatici da mantenere tra i 40 e gli 80 µg/mL (80, 81). La difficoltà a valutare i livelli plasmatici della leflunomide ha condotto all'uso corrente di utilizzare una posologia giornaliera tra i 20 e i 40 mg/*die* senza dose di carico con aggiustamenti in accordo con gli effetti collaterali. Sono stati pubblicati diversi studi clinici, con risultati contrastanti e, a oggi, non esistono studi randomizzati che possano supportare l'efficacia terapeutica della leflunomide (80-83).

I fluorochinoloni sono antibiotici in grado di inibire la replicazione del DNA batterico grazie a un'attività anti girasica. *In vitro* è stata dimostrata un'azione di ofloxacina e levofloxacina sulla replicazione di BKV, probabilmente dovuta all'inibizione della funzione elicastica di *Large-T* (84). Koukoulaki et al., su 32 trapiantati di rene, non hanno dimostrato effetti protettivi sulla riattivazione di BKV nel primo anno post trapianto con l'utilizzo di ciprofloxacina nelle prime 6 settimane (85). Gabardi et al. in un recente studio hanno invece dimostrato una significativa efficacia nell'inibire la replicazione virale BKV e la PyVAN in una coorte di pazienti trattati con ciprofloxacina nel primo mese dopo il trapianto di rene (86).

Per quanto riguarda l'utilizzo di IVIg, è stata dimostrata la presenza nei preparati commerciali di anticorpi anti *Polyomavirus* BK (87) ma, a oggi, non esistono studi che possano supportare l'utilizzo di tale approccio terapeutico (88, 89).

L'evidenza che la replicazione virale incontrollata sia associata a un'assente o deficitaria risposta immune T-cellulare ha portato allo sviluppo di un

innovativo approccio terapeutico basato sulla somministrazione di linfociti BKV specifici generati ed espansi *in vitro* (51, 55, 56, 90). Recentemente, Blyth et al. hanno messo a punto una metodica per la generazione *in vitro* di linfociti T BKV specifici per un possibile utilizzo clinico. Tali cellule sono state ottenute pulsando cellule dendritiche con una miscela di peptidi che coprono le sequenze delle proteine di BKV VP1, VP2, VP3, *Large-T* e *small-T* (60). A oggi non esistono protocolli approvati di trattamento preventivo di PyVAN, ma nella nostra esperienza è stato possibile generare e utilizzare *in vivo* linee T-cellulari specifiche per il *Polyomavirus JC*, in particolare per la proteina capsidica VP1 e quella regolatoria *Large-T*, che ha grande omologia strutturale e funzionale con *Large-T* di BKV. Tali linee sono state utilizzate con successo nel trattamento della leucoencefalopatia progressiva multifocale (PML) JCV-correlata in un paziente che era stato sottoposto a trapianto di cellule staminali emopoietiche. Come già osservato nel monitoraggio dell'immunità cellulare BKV specifica, anche nel caso di JCV una replicazione incontrollata del virus corrispondeva a una mancata risposta cellulare, mentre, dopo l'infusione delle linee cellulari JCV specifiche, la carica virale era significativamente diminuita e la risposta cellulare *virus* specifica del paziente era aumentata (91).

CONCLUSIONI

L'infezione da BKV, la progressione a PyVAN e le strategie terapeutiche per prevenirla e trattarla sono state nell'ultimo decennio oggetto di molti studi. Il momento della diagnosi resta senza dubbio il fattore determinante per la prognosi del trapianto; infatti, il peggioramento della funzionalità renale si osserva generalmente quando la diagnosi viene effettuata negli stadi avanzati di malattia; viceversa, l'intervento precoce determina una buona risposta in termini di funzionalità renale e sopravvivenza del *graft*. In caso di replicazione virale persistente, la riduzione dell'immunosoppressione protegge dalla progressione a PyVAN, senza conseguenze negative nel lungo termine sull'*outcome* del rene trapiantato. L'efficacia di farmaci antivirali è ancora dibattuta e non esistono studi controllati che ne supportino l'utilizzo.

È stato dimostrato che la risposta immune T-cellulare *virus* specifica ha un ruolo preminente nel controllo dell'infezione da BKV; tale evidenza rende questa valutazione uno strumento utile per identificare gli individui a rischio di sviluppare PyVAN e per valutare l'efficacia dei trattamenti utilizzati. Per

questo motivo, lo sviluppo di una strategia terapeutica basata sull'utilizzo di linfociti T BKV specifici appare promettente.

RIASSUNTO

La migliore efficacia dei farmaci immunosoppressivi ha portato nell'ultimo decennio a una diminuzione degli episodi di rigetto acuto ma, allo stesso tempo, è causa dell'emergenza della nefropatia interstiziale Polyomavirus BK correlata (PyVAN). L'incidenza di PyVAN nei riceventi di trapianto renale può arrivare al 10% e progredire fino alla perdita dell'organo trapiantato nel 45% dei casi. A oggi, grazie a una maggiore consapevolezza del problema e all'utilizzo di migliori tecniche diagnostiche, la perdita del rene trapiantato PyVAN correlata è diminuita. La diagnosi di PyVAN viene effettuata mediante valutazioni istopatologiche; è possibile però intervenire precedentemente alla comparsa di segni di danno parenchimale, grazie a screening sistematici basati su tecniche di biologia molecolare, quali la rilevazione della viremia BKV. Finora, l'unico intervento terapeutico di provata efficacia consiste nella riduzione dell'immunosoppressione; altri farmaci sono stati testati, quali cidofovir, leflunomide, fluorochinoloni e IVIg, ma nessuno studio ne supporta l'utilizzo nella pratica clinica. È stato ampiamente dimostrato il ruolo cruciale dell'immunità BKV specifica T-cellulare nel controllo della replicazione virale; per questo motivo la valutazione di tale parametro può essere di aiuto nel monitoraggio della replicazione virale. Considerata l'importanza dell'immunità T-cellulare, sono attualmente in fase di sviluppo protocolli di terapia cellulare per la PyVAN basati sull'utilizzo di linfociti T BKV specifici.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

CONTRIBUTI ECONOMICI AGLI AUTORI

Contributi del "Cinque per mille dell'IRPEF - Finanziamento della ricerca sanitaria" Istituto G. Gaslini, Genova, a F.G. Finanziamento Ricerca Corrente, Ministero Salute (contributo per la ricerca intramurale), Istituto G. Gaslini, Genova, a F.G.

Fondazione Malattie Renali del Bambino, Genova, a F.G. e a M.C.

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro (AIRC) a P.C.; Ministero della Salute: Progetti Ricerca Oncologica [grant numbers RFPS-2006-4-341763 a P.C.; RFPS-2006-Regione Umbria a P.C.] e Progetti Ricerca Finalizzata a P.C.

BIBLIOGRAFIA

1. Egli A, Infanti L, Dumoulin A, et al. Prevalence of polyomavirus BK and JC infection and replication in 400 healthy blood donors. *J Infect Dis* 2009; 199 (6): 837-46.
2. Hirsch HH. BK virus: opportunity makes a pathogen. *Clin Infect Dis* 2005; 41 (3): 354-60.
3. Bohl DL, Brennan DC. BK virus nephropathy and kidney transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2 (Suppl. 1): S36-46.
4. Hirsch HH, Steiger J. Polyomavirus BK. *Lancet Infect Dis* 2003; 3 (10): 611-23.
5. Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, et al. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations. *Transplantation* 2005; 79 (10): 1277-86.
6. Mackenzie EF, Poulding JM, Harrison PR, et al. Human polyoma virus (HPV) a significant pathogen in renal transplantation. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* 1978; 15: 352-60.
7. Binet I, Nickenleit V, Hirsch HH, et al. Polyomavirus disease under new immunosuppressive drugs: a cause of renal graft dysfunction and graft loss. *Transplantation* 1999; 67 (6): 918-22.
8. Awadallah Y, Duquesnoy R, Randhawa P, et al. HLA susceptibility to BKV infection. *Am J Transplant* 2006; 6 (3): 640.
9. Barraclough KA, Isbel NM, Staats CE, et al. BK Virus in Kidney Transplant Recipients: The Influence of Immunosuppression. *J Transplant* 2011; 750-836.
10. Wiseman AC. Polyomavirus nephropathy: a current perspective and clinical considerations. *Am J Kidney Dis* 2009; 54 (1): 131-42.
11. Ramos E, Drachenberg CB, Wali R, et al. The decade of polyomavirus BK-associated nephropathy: state of affairs. *Transplantation* 2009; 87 (5): 621-30.
12. Gardner SD, Field AM, Coleman DV, et al. New human papovavirus (B.K.) isolated from urine after renal transplantation. *Lancet* 1971; 1 (7712): 1253-7.
13. Knowles WA, Pillay D, Johnson MA, et al. Prevalence of long-term BK and JC excretion in HIV-infected adults and lack of correlation with serological markers. *J Med Virol* 1999; 59 (4): 474-9.
14. Krymskaya L, Sharma MC, Martinez J, et al. Cross-reactivity of T lymphocytes recognizing a human cytotoxic T-lymphocyte epitope within BK and JC virus VP1 polypeptides. *J Virol* 2005; 79 (17): 11170-8.
15. Sharma MC, Zhou W, Martinez J, et al. Cross-reactive CTL recognizing two HLA-A*02-restricted epitopes within the BK virus and JC virus VP1 polypeptides are frequent in immunocompetent individuals. *Virology* 2006; 350 (1): 128-36.
16. 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 (2): 743-7.
17. Randhawa PS, Khaleel-Ur-Rehman K, Swalsky PA, et al. DNA sequencing of viral capsid protein VP-1 region in patients with BK virus interstitial nephritis. *Transplantation* 2002; 73 (7): 1090-4.
18. Gosert R, Rinaldo CH, Funk GA, et al. Polyomavirus BK with rearranged noncoding control region emerge in vivo in renal transplant patients and increase viral replication and cytopathology. *J Exp Med* 2008; 205 (4): 841-52.
19. Binggeli S, Egli A, Dickenmann M, et al. BKV replication and cellular immune responses in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2006; 6 (9): 2218-9.
20. Binggeli S, Egli A, Schaub S, et al. Polyomavirus BK-specific cellular immune response to VP1 and large T-antigen in kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2007; 7 (5): 1131-9.
21. Sharma PM, Gupta G, Vats A, et al. Phylogenetic analysis of polyomavirus BK sequences. *J Virol* 2006; 80 (18): 8869-79.
22. Chen Y, Trofe J, Gordon J, et al. Interplay of cellular and humoral immune responses against BK virus in kidney transplant recipients with polyomavirus nephropathy. *J Virol* 2006; 80 (7): 3495-505.
23. Dadhania D, Snopkowski C, Ding R, et al. Epidemiology of BK virus in renal allograft recipients: independent risk factors for BK virus replication. *Transplantation* 2008; 86 (4): 521-8.
24. Bohl DL, Storch GA, Ryschkewitsch C, et al. Donor origin of BK virus in renal transplantation and role of HLA C7 in susceptibility to sustained BK viremia. *Am J Transplant* 2005; 5 (9): 2213-21.
25. Ramos E, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, et al. Clinical course of polyoma virus nephropathy in 67 renal transplant. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13 (8): 2145-51.
26. Brennan DC, Agha I, Bohl DL, et al. Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplant* 2005; 5 (3): 582-94.
27. Hirsch HH, Vincenti F, Friman S, et al. Prospective Study of Polyomavirus BK Viremia and Viremia in De novo Renal transplantation comparing cyclosporine and tacrolimus: a multivariate analysis. *Am J Transplant* 2009; 9 (Suppl. 2): 337.
28. Geddes CC, Gunson R, Mazonakis E, et al. BK viremia surveillance after kidney transplant: single-center experience during a change from cyclosporine-to lower-dose tacrolimus-based primary immunosuppression regimen. *Transpl Infect Dis* 2011; 13 (2): 109-16.
29. Dharnidharka VR, Cherikh WS, Abbott KC. An OPTN analysis of national registry data on treatment of BK virus allograft nephropathy in the United States. *Transplantation* 2009; 87 (7): 1019-26.
30. 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 (4): 373-81.
31. Sis B, Mengel M, Haas M, et al. Banff '09 meeting report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff working groups. *Am J Transplant* 2010; 10 (3): 464-71.
32. Masutani K, Shapiro R, Basu A, et al. The Banff 2009 working proposal for polyomavirus nephropathy: a critical evaluation of its utility as a determinant of clinical outcome. *Am J Transplant* 2012; 12 (4): 907-18.
33. Dadhania D, Snopkowski C, Ding R, et al. Validation of non-invasive diagnosis of BK virus nephropathy and identification of prognostic biomarkers. *Transplantation* 2010; 90 (2): 189-97.
34. 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 (7): 488-96.
35. 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 (8): 1266-70.
36. Babel N, Fendt J, Karaivanov S, et al. Sustained BK viremia as an early marker for the development of BKV-associated nephropathy: analysis of 4128 urine and serum samples. *Transplantation* 2009; 88 (1): 89-95.
37. Astegiano S, Bergallo M, Terlizzi ME, et al. Combined measurement of serum DNA and urine VP1 messenger RNA in monitoring BK virus replication in kidney graft recipients. *Transplant Proc* 2011; 43 (4): 1052-4.
38. Hirsch HH, Drachenberg CB, Steiger J, et al. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: critical issues of screening and management. *Adv Exp Med Biol* 2006; 577: 16073.
39. Nickenleit 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 (5): 1080-9.
40. Nickenleit V, Hirsch HH, Zeiler M, et al. BK-virus nephropathy in renal transplants-tubular necrosis, MHC-class II expression and rejection in a puzzling game. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 (3): 324-32.
41. Drachenberg CB, Beskow CO, Cangro CB, et al. Human polyoma virus in renal allograft biopsies: morphological fin-

- dings and correlation with urine cytology. *Hum Pathol* 1999; 30 (8): 970-7.
42. Chakera A, Dyar OJ, Hughes E, et al. Detection of polyomavirus BK reactivation after renal transplantation using an intensive decoy cell surveillance program is cost-effective. *Transplantation* 2011; 92 (9): 1018-23.
 43. Boudreault AA, Courtemanche C, Latulippe E, et al. Screening for polyomavirus associated nephropathy in renal transplantation with blood viral load measurement. *J Clin Virol* 2009; 45 (4): 318-21.
 44. Pollara CP, Corbellini S, Chiappini S, et al. Quantitative viral load measurement for BKV infection in renal transplant recipients as a predictive tool for BKVAN. *New Microbiol* 201; 34 (2): 165-71.
 45. Costa C, Bergallo M, Astegiano S, et al. Monitoring of BK virus replication in the first year following renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23 (10): 3333-6.
 46. Funk GA, Gosert R, Comoli P, et al. Polyomavirus BK replication dynamics in vivo and in silico to predict cytopathology and viral clearance in kidney transplants. *Am J Transplant* 2008; 8 (11): 2368-77.
 47. Bergallo M, Costa C, Gribaudo G, et al. Evaluation of six methods for extraction and purification of viral DNA from urine and serum samples. *New Microbiol* 2006; 29 (2): 111-9.
 48. Vasudev B, Hariharan S, Hussain SA, et al. BK virus nephritis: risk factors, timing, and outcome in renal transplant recipients. *Kidney Int* 2005; 68 (4): 1834-9.
 49. Mitterhofer AP, Tinti F, Pietropaolo V, et al. Polyomavirus BK replication in adult polycystic kidney disease post-renal transplant patients and possible role of cellular permissivity. *Transplant Proc* 2011; 43 (4): 1048-51.
 50. KDIGO Clinical Practice Guideline for the Care of Kidney Transplant Recipients. *Am J Transplant* 2009; 9 (Suppl. 3): S1-155.
 51. Comoli P, Azzi A, Maccario R, et al. BK-specific immunity after kidney transplantation. *Transplantation* 2004; 78 (8): 1229-32.
 52. Comoli P, Binggeli S, Ginevri F, et al. Polyomavirus-associated nephropathy: update on BK virus-specific immunity. *Transpl Infect Dis* 2006; 8 (2): 86-94.
 53. Ginevri F, Azzi A, Hirsch HH, et al. Prospective monitoring of polyomavirus BK replication and impact of pre-emptive intervention in pediatric kidney recipients. *Am J Transplant* 2007; 7 (12): 2727-35.
 54. Prosser SE, Orentas RJ, Jurgens L, et al. Recovery of BK virus large T-antigen-specific cellular immune response correlates with resolution of bk virus nephritis. *Transplantation* 2008; 85 (2): 185-92.
 55. Chakera A, Bennett S, Lawrence S, et al. Antigen-specific T cell responses to BK polyomavirus antigens identify functional anti-viral immunity and may help to guide immunosuppression following renal transplantation. *Clin Exp Immunol* 2011; 165 (3): 401.
 56. Trydzenskaya H, Sattler A, Müller K, et al. Novel approach for improved assessment of phenotypic and functional characteristics of BKV-specific T-cell immunity. *Transplantation* 2011; 92 (11): 1269-77.
 57. Schachtner T, Müller K, Stein M, et al. BK virus-specific immunity kinetics: a predictor of recovery from polyomavirus BK-associated nephropathy. *Am J Transplant* 2011; 11 (11): 2443-52.
 58. Comoli P, Basso S, Hirsch HH, et al. Humoral and cellular immunity to polyomavirus BK large T and VP1 antigens after pediatric kidney transplantation. *Am J Transplant* 2008; 8 (Suppl. 2): 283.
 59. Mueller K, Schachtner T, Sattler A, et al. BK-VP3 as a new target of cellular immunity in BK virus infection. *Transplantation* 2011; 91 (1): 100-7.
 60. Blyth E, Clancy L, Simms R, et al. BK virus-specific T cells for use in cellular therapy show specificity to multiple antigens and polyfunctional cytokine responses. *Transplantation* 2011; 92 (10): 1077-84.
 61. Abend JR, Low JA, Imperiale MJ. Inhibitory effect of gamma interferon on BK virus gene expression and replication. *J Virol* 2007; 81 (1): 272-9.
 62. Womer KL, Huang Y, Herren H, et al. Dendritic cell deficiency associated with development of BK viremia and nephropathy in renal transplant recipients. *Transplantation* 2010; 89 (1): 115-23.
 63. Bohl DL, Brennan DC, Ryschkewitsch C, et al. BK virus antibody titers and intensity of infections after renal transplantation. *J Clin Virol* 2008; 43 (2): 184-9.
 64. Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Hirsch HH, et al. Histological patterns of polyomavirus nephropathy: correlation with graft outcome and viral load. *Am J Transplant* 2004; 4 (12): 2082-92.
 65. Ginevri F, Hirsch HH. Polyomavirus-associated nephropathy. In: Molony DA, Craig JC eds. *Evidence-Based Nephrology*, Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2008. *Acott Ped Nephrol* 2007.
 66. Saad ER, Bresnahan BA, Cohen EP, et al. Successful treatment of BK viremia using reduction in immunosuppression without antiviral therapy. *Transplantation* 2008; 85 (6): 850-4.
 67. Alméras C, Vetromile F, Garrigue V, et al. Monthly screening for BK viremia is an effective strategy to prevent BK virus nephropathy in renal transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 2011; 13 (2): 101-8.
 68. Schaub S, Hirsch HH, Dickenmann M, et al. Reducing immunosuppression preserves allograft function in presumptive and definitive polyomavirus-associated nephropathy. *Am J Transplant* 2010; 10 (12): 2615-23.
 69. Hardinger KL, Koch MJ, Bohl DJ, et al. BK-virus and the impact of pre-emptive immunosuppression reduction: 5-year results. *Am J Transplant* 2010; 10 (2): 407-15.
 70. Johnston O, Jaswal D, Gill JS, et al. Treatment of polyomavirus infection in kidney transplant recipients: a systematic review. *Transplantation* 2010; 89 (9): 1057-70.
 71. Bernhoff E, Gutteberg TJ, Sandvik K, et al. Cidofovir inhibits polyomavirus BK replication in human renal tubular cells downstream of viral early gene expression. *Am J Transplant* 2008; 8 (7): 1413-22.
 72. Araya CE, Lew JF, Fennell RS 3rd, et al. Intermediate-dose cidofovir without probenecid in the treatment of BK virus allograft nephropathy. *Pediatr Transplant* 2006; 10 (1): 32-7.
 73. Bjorang O, Tveitan H, Midtvedt K, et al. Treatment of polyomavirus infection with cidofovir in a renal-transplant recipient. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17 (11): 2023-5.
 74. Kadambi PV, Josephson MA, Williams J, et al. Treatment of refractory BK virus-associated nephropathy with cidofovir. *Am J Transplant* 2003; 3 (2): 186-91.
 75. Keller LS, Peh CA, Nolan J, et al. BK transplant nephropathy successfully treated with cidofovir. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18 (5): 1013-4.
 76. Kuypers DR, 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 (8): 1997-2004.
 77. Lim WH, Mathew TH, Cooper JE, et al. Use of cidofovir in polyomavirus BK viral nephropathy in two renal allograft recipients. *Nephrology* 2003; 8 (6): 318-23.
 78. Vats A, Shapiro R, Singh Randhawa P, et al. Quantitative viral load monitoring and cidofovir therapy for the management of BK virus-associated nephropathy in children and adults. *Transplantation* 2003; 75 (1): 105-12.
 79. Bernhoff E, Tylden GD, Kjerpeseth LJ, et al. Leflunomide inhibition of BK virus replication in renal tubular epithelial cells. *J Virol* 2010; 84 (4): 2150-6.
 80. Josephson MA, Gillen D, Javaid B, et al. Treatment of renal allograft polyoma BK virus infection with leflunomide. *Transplantation* 2006; 81 (5): 704-10.
 81. Williams JW, Javaid B, Kadambi PV, et al. Leflunomide for

- polyomavirus type BK nephropathy. *N Engl J Med* 2005; 352 (11): 1157-8.
82. Faguer S, Hirsch HH, Kamar N, et al. Leflunomide treatment for polyomavirus BK-associated nephropathy after kidney transplantation. *Transpl Int* 2007; 20 (11): 962-9.
 83. Leca N, Muczynski KA, Jefferson JA, et al. Higher levels of leflunomide are associated with hemolysis and are not superior to lower levels for BK virus clearance in renal transplant patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3 (3): 829-35.
 84. Sharma BN, Li R, Bernhoff E, et al. Fluoroquinolones inhibit human polyomavirus BK (BKV) replication in primary human kidney cells. *Antiviral Res* 2011; 92 (1): 115-23.
 85. Koukoulaki M, Apostolou T, Hadjiconstantinou V, et al. Impact of prophylactic administration of ciprofloxacin on BK polyoma virus replication. *Transpl Infect Dis* 2008; 10 (6): 449-51.
 86. Gabardi S, Waikar SS, Martin S, et al. Evaluation of fluoroquinolones for the prevention of BK viremia after renal transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5 (7): 1298-304.
 87. Puliyananda D, Radha RK, Amet N, et al. IVIG contains antibodies reactive with polyoma BK virus and may represent a therapeutic option for BK nephropathy. *Am Journal of Transplant* 2003; 3: 393.
 88. 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 (1): 117-20.
 89. Cibrik DM, Kaplan B, Campbell DA, et al. Renal allograft survival in transplant recipients with focal segmental glomerulosclerosis. *Am J Transplant* 2003; 3 (1): 64-7.
 90. Comoli P, Hirsch HH, Ginevri F. Cellular immune responses to BK virus. *Curr Opin Organ Transplant* 2008; 13 (6): 569-74.
 91. Balduzzi A, Lucchini G, Hirsch HH, et al. Polyomavirus JC-targeted T-cell therapy for progressive multiple leukoencephalopathy in a hematopoietic cell transplantation recipient. *Bone Marrow Transplant* 2011; 46 (7): 987-92.