

Caso Clinico

Aplasia midollare pura della serie rossa (PRCA) indotta da infezione da Parvovirus B19 in un paziente portatore di trapianto renale. Descrizione di un caso clinico

S. Ibba¹, M.B. Michittu², M.G. Murgia², B. Onano², A. Ponticelli¹, D. Olla¹, A. Pani¹, M. Badiali³, G.B. Piredda²

¹S.C. Nefrologia e Dialisi, Azienda Ospedaliera Brotzu, Cagliari

²SSD Trapianto Renale, Azienda Ospedaliera Brotzu, Cagliari

³Trapianti Midollo Osseo, Ospedale Microcitemico, Cagliari

PARVOVIRUS B19 INFECTION INDUCING PURE RED CELLS MEDULLARY APLASIA IN KIDNEY TRANSPLANTS PATIENT

ABSTRACT. A 55-year-old man was admitted to the hospital in November 2010 because of an anemia resistant to erythropoietin treatment and scarcely responsive to blood transfusions. The patient had received a kidney transplant 45 days earlier and he was receiving an immunosuppression treatment with steroids, everolimus and tacrolimus. A secondary anemia was ruled out during his stay in the hospital. The clinical hypothesis was a hyporigenerative anemia due to erythropoietin antibodies. The erythropoietin treatment was stopped, the serum erythropoietin was dosed and its value was higher than normally. A bone marrow needle aspiration showed a pure acquired aplasia of the red cells. The parvovirus B19 was detected both in the serum and in the bone marrow. The patient was treated with corticosteroids (prednisone) and i.v. immunoglobulins. A gradual and slow recovery of the aplasia followed.

KEY WORDS. PRCA (pure red cell aplasia), Parvovirus B19, Renal transplantation



Sabrina Ibba

Introduzione

L'aplasia midollare pura della serie rossa (PRCA) è una rara condizione caratterizzata da una severa riduzione del numero dei reticolociti circolanti nel sangue periferico e dalla virtuale assenza di precursori nel midollo osseo. Tutte le altre linee cellulari sono presenti e morfologicamente normali. Si distinguono tre forme di PRCA (Tab. I): una acuta (che si autolimita), una cronica acquisita e una congenita (1). La forma cronica acquisita può essere in relazione a: malattie autoimmuni (2), linfoproliferative, timomi (3), stati di immunosoppressione (4) e nel tra-

pianto ABO incompatibile (5) (Tab. I). La forma congenita (sindrome di Diamond-Blackfan) è rara e trasfusione dipendente (Tab. I). La forma acuta può manifestarsi in corso di infezioni virali (parotite, parvovirus B19) (6), in corso di polmonite atipica da micoplasma e nella gravidanza (7). I virus HBV, HCV (8), HIV (Tab. I) possono portare ad una crisi aplastica acuta o presentarsi come forma cronica acquisita (4). Un'altra causa importante di insorgenza di PRCA acuta è l'assunzione di immunosoppressori da soli o in associazione con altri farmaci (Tab. I). L'eritropoietina ricombinante può indurre la formazione di anticorpi anti-eritropoietina determinando una forma acuta di PRCA (9), (Tab. I). La forma con una miglior prognosi è quella indotta dal parvovirus B19 (6). Tale virus ha come bersaglio le cellule progenitrici della

serie eritroide del midollo osseo e gioca un ruolo importante nella regolazione della replicazione del DNA e nell'induzione dell'apoptosi cellulare (10). È inoltre una causa rara di aplasia midollare nell'ospite immunocompromesso (6), (Fig. 2). L'associazione di alcuni farmaci immunosoppressori come il tacrolimus, il micofenolato-mofetile in corso di PRCA da infezione da parvovirus B19 sembra peggiorare il quadro di aplasia (11). La terapia della PRCA cronica acquisita si basa sul trattamento della malattia di base autoimmune o linfoproliferativa (12). I farmaci utilizzati sono i corticosteroidi (1 mg/kg/die) e, quando risultassero insufficienti, gli immunosoppressori o citostatici come la ciclofosfamide, la ciclosporina, o gli anti-CD20 (rituximab) (12); l'alemtuzumab; la plasmateresi e le timoglobuline (ATG) (Tab. II). Le emotrasfusioni ripetute sono alla base della terapia della forma congenita (1) (Tab. II). La forma acuta risponde alla terapia steroidea e alla infusione di immunoglobuline endovena (0.4 g/kg/die), (13).

Caso Clinico

La storia clinica del paziente risale al 1987 quando fu diagnosticata una insufficienza renale cronica di etiologia non determinata. Il **31/02/2008** ??? iniziò la terapia sostitutiva emodialitica. Il 29 settembre 2010 fu sottoposto ad intervento di trapianto renale da donatore cadavere. Fu praticata terapia immunosoppressiva d'induzione con basiliximab e di mantenimento con tacrolimus (8.5 mg/die), everolimus (1.5 mg/die) e steroidi a dosaggi scalari. Si ebbe una rapida ripresa funzionale del rene trapiantato con il raggiungimento di normali valori di creatinina e stabilità dei valori di emoglobina, 11 g/dL. Il paziente proseguì la terapia antipertensiva iniziata nel 2008 con gli ACE-inibitori, sartani, Ca-antagonisti e β -bloccanti. Il 24 novembre 2010 venne ricoverato per una progressiva riduzione dei valori di emoglobina che da 11 g/dL del 13 ottobre passarono a 8 g/dL il 10 novembre (in tale data il paziente presentava livelli sierici

TABELLA I - CAUSE DI APLASIA ERITROCITARIA PURA (PRCA)

TABELLA I - CAUSE DI APLASIA ERITROCITARIA PURA (PRCA)		
Congenita Idiopatica	Sindrome di Biamod Blackfan Circa il 50% dei casi di PRCA	
Acquisita	Acuta	Infezioni Parvovirus B19 Polmonite atipica da micoplasma Parotite HAV, HBV, HCV, HIV (presentazione acuta) Farmaci (se associati a farmaci immunosoppressori) Allopurinolo D-penicillamina Benzene Pesticidi
	Cronica	Malattie Linfoproliferative Leucemia LGL Timoma (5% dei casi) Malattie Autoimmuni Lupus Eritematoso Sistemico Artrite Reumatoide PRCA da Anticorpi Anti-r-HuEPO (EPO-ricombinante) Trapianti d'Organo / stati di immunosoppressione Trapianti d'Organo ABO-incompatibile Infezioni HAV, HBV, HCV, HIV (presentazione cronica) Farmaci Azatioprina Micofenolato Mofetile Sirolimus e Tacrolimus

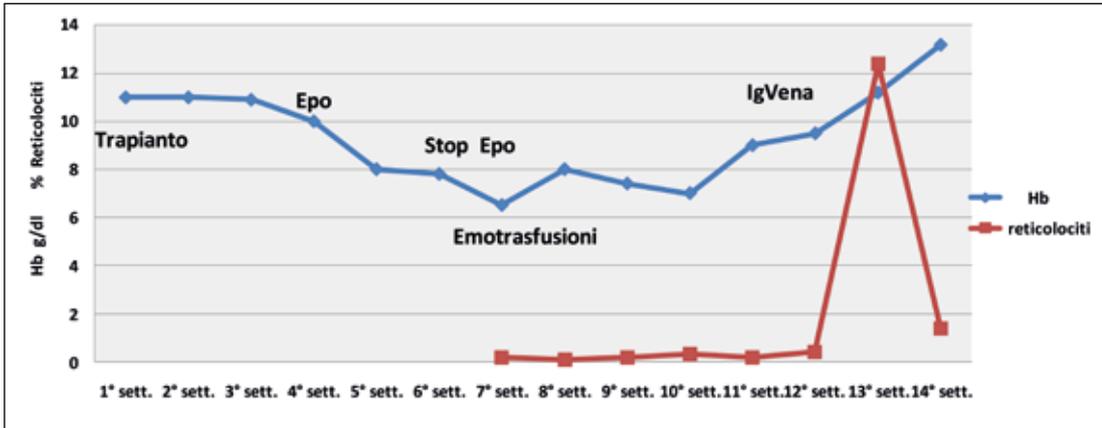


Fig. 1 - Andamento dei valori dell'emo globina e dei reticolociti circolanti in funzione della terapia praticata nel corso del ricovero.

di tacrolimus di 7.4 ng/dL e di everolimus di 4.3 ng/dL) e quindi a 6.5 g/dL al momento del ricovero. Gli esami praticati ai controlli ambulatoriali permisero di escludere una forma ferro-carenziale. Il 10 novembre iniziò terapia con epoietina β al dosaggio di 10 000 UI sottocute alla settimana che non sortì alcun beneficio. Al momento del ricovero il paziente lamentava astenia, dispnea a riposo, epigastralgia, ed erano presenti lesioni papulose cutanee a livello del cuoio capelluto e febricola. Gli esami di laboratorio confermarono la grave anemia e rilevarono la quasi assenza dei reticolociti circolanti (<0.2%) (Fig. 1). I test di coombs, l'aptoglobina, la bilirubina, le transaminasi e il sangue occulto delle feci risultarono tutti

negativi. Risultarono negativi anche CMV, EBV, HBV, HCV, HIV, Herpes-virus. Non erano presenti segni clinici o sierologici di vasculite. Fu eseguita una gastroscopia che evidenziò una gastrite erosiva antrale in assenza di sanguinamento e all'esame istologico un focolaio di metaplasia intestinale. Il paziente fu sottoposto a emotrasfusioni e venne sospeso l'everolimus. L'emoglobina raggiunse valori di 8.7 g/dL. L'anemia inizialmente si accompagnò ad una transitoria leucopenia (WBC: 3800) e ad una inversione della formula leucocitaria (L: 54.7% e N:33%). Fu quindi praticato un ago-aspirato-midollare che confermò un quadro compatibile con 'pure red cell aplasia' (PRCA) acquisita. Alla luce di questo dato, nel

TABELLA II - TERAPIA DELLA 'APLASIA ERITROCITARIA PURA' (PRCA)		
Congenita Idiopatica	Sindrome di Biamod Blackfan Emotrasfusioni Corticosteroidi Danazolo	
Acquisita	Acuta	Infezioni Parvovirus B19: Corticosteroidi (prednisone 1-2mg/kg/die) IgVena (0,4 g/kg/die x 5-10 gg)
	Cronica	Malattie Linfoproliferative Leucemia LGL; Timoma (5% dei casi) Terapia specifica della malattia di base; Timectomia. Malattie Autoimmuni Les; AR; Anti-r-Hu-Epo: Corticosteroidi (1 mg/kg/die) Ciclofosfamide Ciclosporina Anti-CD20 (rituximab) Alemtuzumab Plasmaferesi Timoglobuline (ATG)

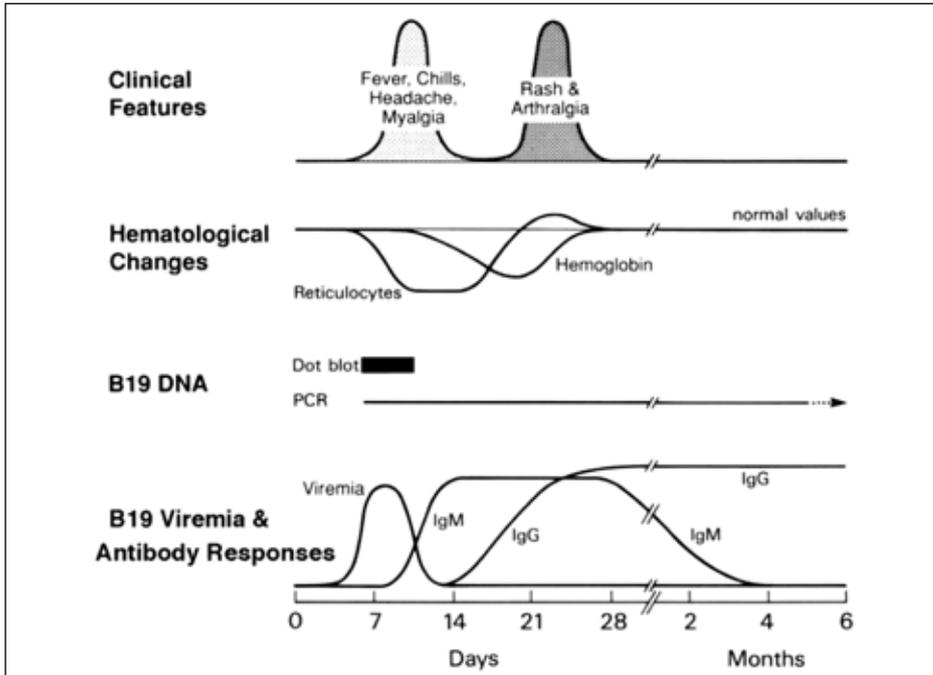


Fig. 2 - Parvovirus B19: Manifestazioni cliniche, alterazioni ematologiche, risposta anticorpale e diagnosi.

sospetto di una forma indotta da anticorpi anti-eritropoietina venne sospesa la sua somministrazione (Fig. 1) e dosato il livello sierico a distanza di una settimana che risultò superiore alla norma (195mU/mL con v.n. 3.7-29.5 mU/mL). Contemporaneamente fu avviata la ricerca del parvovirus B19 a livello sierico e nel midollo che risultò positiva: 50 753 copie a livello periferico e 4.2×10^4 copie/mL nel sangue midollare. Fu posta quindi diagnosi di PRCA indotta da infezione da parvovirus B19. Si aumentò quindi la posologia del prednisone a 20 mg/die e si iniziò terapia con Immunoglobuline endovena (IgVena 0.4g/kg/die) per 5 giorni consecutivi. Al momento della dimissione, 24 dicembre, i valori dell'Hb erano stabili a 9.5 g/dL e i reticolociti 0.4%. Si proseguì la terapia immunosoppressiva con prednisone 20 mg/die e tacrolimus 4 mg/die. Ai controlli ambulatoriali del 28 dicembre il valore dell'emoglobina era di 11.2 g/dL con una conta reticolocitaria del 12.4% (Fig. 1). Il 23 febbraio 2011 i valori dell'emoglobina erano di 13.2 g/dL e i reticolociti stabili a 1.2%. Tale quadro persiste a distanza di 4 mesi con valori di creatinina compresi fra 0.9-1 mg/dL. Terapia attuale: tacrolimus (livelli 6 ng/mL), prednisone 5 mg.

Discussione

La quasi totale assenza dei reticolociti nel nostro paziente ci fece orientare verso una forma di anemia

iporigenerativa coinvolgente esclusivamente la serie rossa. Ciò imponeva una diagnosi differenziale fra diverse condizioni predisponenti alla PRCA, quali l'assunzione di farmaci immunosoppressivi, l'eritropoietina (9), le infezioni (8) e le malattie linfoproliferative. Nel caso clinico da noi descritto i sospetti iniziali vennero riposti sulla possibile produzione di anticorpi anti-EPO (9), sulla possibile implicazione dei farmaci immunosoppressori assunti dal paziente e sulla infezione da parvovirus B19. Nella impossibilità di dosare direttamente gli anticorpi anti-EPO fu valutata la quantità di eritropoietina circolante che risultò a livelli sei volte maggiori (195 mU/mL) il limite normale (30 mU/mL). Tale dato ci fece dedurre che l'anemia avesse indotto una iperproduzione di eritropoietina da parte del rene trapiantato normalmente funzionante e la totale assenza di anticorpi anti-EPO. Le tecniche di laboratorio di dosaggio non riescono a distinguere l'eritropoietina esogena da quella endogena per cui la valutazione della EPO circolante fu fatta circa una settimana dopo l'interruzione dell'EPO sottocute (emivita EPO: 1-2 giorni). Ciò ci permise di avere una stima reale della produzione endogena. È dimostrato che l'epo ricombinante può indurre PRCA nei pazienti con insufficienza renale cronica in emodialisi (9). Il tipo di eritropoietina maggiormente capace di indurre la produzione di anticorpi neutralizzanti è l'epoietina α (9-14). Fra il 1999 e il 2002 si sono registrati 95 casi in corso di terapia con epoetina α contro i due casi della epoietina

na β (9). Il nostro paziente assumeva epoiatina β che presenta delle caratteristiche meno immunogeniche e quindi causa meno probabile di PRCA. La strada percorsa fu quella della sospensione dell'everolimus che può indurre anemia. Fu dirimente l'agoaspirato midollare e la ricerca del parvovirus B19 sul sangue midollare e periferico (15). L'infezione da parvovirus B19 nei soggetti trapiantati spesso è sottovalutata. La condizione di immunosoppressione può determinare una viremia persistente silente che porta ad una anemia cronica (16). Il virus ha come obiettivo le cellule eritroidi del midollo osseo. A questo livello trova un recettore, l'antigene P (17), espresso abbondantemente sulla superficie degli eritroblasti e un co-recettore, l'integrina alfa5 β 1 (18) senza la quale il solo recettore P non sarebbe sufficiente all'integrazione virale e alla sua replicazione. I progenitori eritroidi così infettati vanno incontro alla lisi e alla apoptosi mediata da NS1 (proteina che regola il ciclo vitale virale interferendo con segnali intracellulari che ne determinano l'apoptosi) (19). Dopo circa dieci giorni si ha la produzione di anticorpi specifici neutralizzanti virali (IgM) seguita poi dalla produzione di IgG (22) (Fig. 2). L'introduzione della tecnica di rilevazione del virus in PCR ha dimostrato la persistenza del DNA virale nel midollo osseo e nel sangue periferico, per mesi o anche anni, sia in individui immunocompetenti che non (16). Ciò dimostra che l'infezione da B19 è comune, può restare silente, può determinare un'anemia cronica o può dare una crisi aplastica transitoria (Fig. 2) in dipendenza dalle condizioni di immunocompetenza. Egbuna et al sottoposero a screening 212 pazienti trapiantati nel corso di tre mesi. Di questi, 8 presentarono una grave anemia non spiegata (ematocrito <30%; Hb < 7g/dL) resistente alla eritropoietina, tre di questi (38%) risultarono positivi per B19 ricercato con tecnica PCR (21). Cavallo et al hanno riportato che 11 (23%) di 48 pazienti trapiantati presentarono anemia da B19 (22) e così il lavoro di Bertoni et al (4 su 9 pazienti) (23). La terapia si basa sull'utilizzo di IgVena le quali si sono dimostrate efficaci con vari regimi differenti come segnalato da diversi studi condotti, e di prednisone alla posologia di 1-2 mg/kg/die. In maniera ubiquitaria la posologia più utilizzata delle IgVena è quella di 0.4g/kg/die per 5-10 giorni consecutivi (24) (Tab. II). La completa eradicazione del virus può non verificarsi nei pazienti trapiantati immunosoppressi, questo espone alle recidive che si possono osservare anche a distanza di mesi. Concludendo possiamo dire che la diagnosi di PRCA da B19 nella categoria dei pazienti trapiantati può essere difficile

per molte ragioni. Spesso abbiamo una presentazione sintomatologica atipica della infezione e l'anemia nel periodo post-trapianto potrebbe essere multifattoriale. Pertanto, il parvovirus non è immediatamente considerato nella lunghissima lista delle cause di anemia. Nelle forme di anemia iporigenerativa con bassa conta reticolocitaria nei pazienti trapiantati dovrebbe essere considerata l'ipotesi di introdurre come routine la ricerca del genoma virale in PCR tale da consentirne una diagnosi precoce.

Riassunto

Il caso riguarda un soggetto di sesso maschile di 55 anni portatore di trapianto renale in terapia immunosoppressiva con steroidi, everolimus e tacrolimus. Nel mese di novembre 2010, dopo circa 45 giorni dal trapianto, il paziente ha presentato un'anemia non responsiva alla terapia con eritropoietina e scarsamente responsiva alle emotrasfusioni. Gli esami praticati durante il ricovero hanno permesso di escludere una forma di anemia secondaria e fatto sospettare una forma iporigenerativa (bassi valori di reticolociti). Nell'ipotesi che si trattasse di una forma indotta dalla presenza di anticorpi anti-eritropoietina fu sospeso il farmaco e dosata l'eritropoietina sierica i cui valori risultarono superiori alla norma. L'esame dell'agoaspirato midollare evidenziò un quadro compatibile con una aplasia midollare pura della serie rossa (PRCA) di tipo acquisito. È risultata positiva sia sul siero che sul sangue midollare la ricerca del parvovirus B19. Il paziente è stato quindi trattato con corticosteroidi (prednisone) e immunoglobuline endovena (IgVena) con una graduale e lenta risoluzione del quadro di aplasia midollare.

Parole Chiave. PRCA (aplasia pura della serie rossa), Parvovirus B19, Trapianto renale

Indirizzo degli Autori:

Gianni Piredda, MD
SSD Trapianto Renale
Azienda Ospedaliera Brotzu
Piazzale Ricchi 1
09134 Cagliari
gianni.piredda@tin.it

Bibliografia

1. Dessypris EN. Aplastic anemia and pure red cell aplasia. *Curr Opin Hematol* 1994; 1(2): 157-61.
2. Tsai MH, Lee DT, Chen HC, et al. Systemic lupus erythematosus with pure red cell aplasia: a case report. *Chung Hua I Hsueh Tsa Chih (Taipei)* 1993; 52(4): 265-8.
3. Nelson RP Jr, Pascuzzi RM. Paraneoplastic syndromes in thymoma: an immunological perspective. *Curr Treat Options Oncol* 2008; 9(4-6): 269-76.
4. Charles RJ, Sabo KM, Kidd PG, Abkowitz JL. The pathophysiology of pure red cell aplasia: implications for therapy. *Blood* 1996; 87(11): 4831-8.
5. Bierman PJ, Warkentin P, Hutchins MR, Klassen LW. Pure red cell aplasia following ABO mismatched marrow transplantation for chronic lymphocytic leukemia: response to antithymocyte globulin. *Leuk Lymphoma* 1993; 9(1-2): 169-71.
6. Ahsan N, Holman MJ, Gocke CD, et al. Pure red cell aplasia due to parvovirus B19 infection in solid organ transplantation. *Clin Transplant* 1997; 11(4): 265-70.
7. Baker RI, Manoharan A, de Luca E, Begley CG. Pure red cell aplasia of pregnancy: a distinct clinical entity. *Br J Haematol* 1993; 85(3): 619-22.
8. al-Awami Y, Sears DA, Carrum G, et al. Pure red cell aplasia associated with hepatitis C infection. *Am J Med Sci* 1997; 314(2): 113-7.
9. Casadevall N, Nataf J, Viron B, et al. Pure red-cell aplasia and antierythropoietin antibodies in patients treated with recombinant erythropoietin. *N Engl J Med* 2002; 346(7): 469-75.
10. Moffatt S, Yaegashi N, Tada K, Tanaka N, Sugamura K. Human parvovirus B19 nonstructural (NS1) protein induces apoptosis in erythroid lineage cells. *J Virol* 1998; 72: 3018-28.
11. Wong TY, Chan PK, Leung CB, Szeto CC, Tam JS, Li PK. Parvovirus B19 infection causing red cell aplasia in renal transplantation on tacrolimus. *Am J Kidney Dis* 1999; 34: 1132-6.
12. D'Arena G, Vigliotti ML, Dell'Olio M, et al. Rituximab to treat chronic lymphoproliferative disorder-associated pure red cell aplasia. *Eur J Haematol* 2009; 82(3): 235-9.
13. Bjorkholm M. Intravenous immunoglobulin treatment in cytopenic haematological disorders. *J Intern Med* 1993; 234(2): 119-26.
14. Bennett CL, Luminari S, Nissenson AR, et al. Pure red-cell aplasia and epoetin therapy. *N Engl J Med* 2004; 351(14): 1403-8.
15. Sabella C, Goldfarb J. Parvovirus B19 infections. *Am Fam Physician* 1999; 60(5): 1455-60.
16. Pamidi S, Friedman K, Kampalath B, Eshoa C, Hariharan S. Human parvovirus B19 infection presenting as persistent anemia in renal transplant recipients. *Transplantation* 2000; 69: 2666-9.
17. Weigel-Kelley KA, Yoder MC, Srivastava A. Recombinant human parvovirus B19 vectors: Erythrocyte P antigen is necessary but not sufficient for successful transduction of human hematopoietic cells. *J Virol* 2001; 75: 4110-6.
18. Weigel-Kelley KA, Yoder MC, Srivastava A. Alpha 5 beta 1 integrin as a cellular coreceptor for human parvovirus B19: Requirement of functional activation of beta 1 integrin for viral entry. *Blood* 2003; 102: 3927-33.
19. Morita E, Nakashima A, Asao H, Sato H, Sugamura K. Human parvovirus B19 nonstructural protein (NS1) induces cell cycle arrest at G(1) phase. *J Virol* 2003; 77: 2915-21.
20. Modrow S, Dorsch S. Antibody responses in parvovirus B19 infected patients. *Pathol Biol (Paris)* 2002; 50: 326-31.
21. Egbuna O, Zand MS, Arbin A, Menegus M, Taylor J. A cluster of parvovirus B19 infections in renal transplant recipients: A prospective case series and review of the literature. *Am J Transplant* 2006; 6: 225-31.
22. Cavallo R, Merlino C, Re D, Bollero C, Bergallo M, Lembo D, Musso T, Leonardi G, Segoloni GP, Ponzi AN. B19 virus infection in renal transplant recipients. *J Clin Virol* 2003; 26: 361-8.
23. Bertoni E, Rosati A, Zanazzi M, Azzi A, Zakrzewska K, Guidi S, Fanci R, Salvadori M. Aplastic anemia due to B19 parvovirus infection in cadaveric renal transplant recipients: An underestimated infectious disease in the immunocompromised host. *J Nephrol* 1997; 10: 152-6.
24. Moudgil A, Shidban H, Nast CC, Bagga A, Aswad S, Graham SL, Mendez R, Jordan SC. Parvovirus B19 infection-related complications in renal transplant recipients: Treatment with intravenous immunoglobulin. *Transplantation* 1997; 64: 1847-50.

TEST di VERIFICA - 3

1) Caratteristiche della PRCA:

- a) È una aplasia midollare pura della serie rossa
- b) I reticolociti circolanti sono aumentati
- c) Sono coinvolte tutte le linee cellulari midollari
- d) Si presenta sempre in forma acuta

2) Parvovirus B19:

- a) Sensibile alla terapia antivirale
- b) Determina aprassia ed atassia
- c) Agente eziologico della quinta malattia
- d) Appartiene alla famiglia degli ortomixovirus

3) Terapia della PRCA indotta da parvovirus B19

- a) Ciclofosfamide
- b) Rituximab
- c) Prednisone e IgVena.
- d) Paracetamolo

Le risposte corrette alle domande sono a pag. 25