

## **CRIOGLOBULINEMIA MISTA HCV E HBV NEGATIVA DIAGNOSTICATA TRAMITE L'AUTOCOMPILAZIONE DEL QUESTIONARIO G.I.S.C.**

Castelnovo L, Saccardo F, Novati P, Monti G

U.O. di Medicina – Ospedale di Saronno

Il **progetto A.L.CRI. "ORIGGIO Salute"** è uno studio epidemiologico non prospettico, trasversale e non interventistico promosso da A.L.CRI e dalla Fondazione Comunitaria del Varesotto ONLUS, con il proposito di indagare la prevalenza di crioglobulinemia HCV correlata e la sindrome crioglobulinemica (SC), realizzato presso la nostra Unità Operativa tra il 2010 e il 2011.

A tal fine è stato utilizzato il questionario auto-compilativo proposto e validato dal gruppo del professor De Vita e dal GISC per i criteri classificativi preliminari di vasculite crioglobulinemica/crioglobulinemia mista sintomatica, costruiti e già validati in gruppi di patologie o pazienti selezionati.

Il questionario è stato quindi proposto alla popolazione generale adulta di una comunità di circa 6.000 abitanti del comune di Origgio (VA), assieme ad alcune semplici informazioni circa la patologia e alla richiesta di consenso informato a trattare i dati ottenuti.

Tale questionario prevede la risposta a 3 semplici domande:

- ricorda uno o più episodi in cui le sono comparsi piccoli puntini rossi o piccole chiazze rosse sulla pelle, in particolare sulle gambe?
- ha mai notato piccole chiazze rosse alle gambe che, alla loro scomparsa, lasciano un alone marrone?
- qualche medico le ha mai detto che soffre di infezione da virus dell'epatite?

Ed è considerato positivo il paziente che fornisce almeno due risposte affermative su tre.

### **CASO CLINICO**

Uomo di 42 anni che, ricevuto a domicilio e quindi letto il questionario, si presenta direttamente in Reparto perché nelle domande proposte ha riconosciuto i suoi sintomi.

Da circa 3 anni riferiva infatti porpora agli arti inferiori, anche associata a episodi di ulcerazioni e lenta guarigione delle ferite post - traumatiche, artromialgie, parestesie e astenia marcata. Raccontava inoltre di aver già effettuato plurime

valutazioni cliniche e numerosi accessi in diversi presidi di Pronto Soccorso della zona per questa problematica, senza risoluzione.

La valutazione clinica ha confermato la presenza di estese lesioni purpuriche agli arti inferiori.

Gli esami di laboratorio hanno mostrato la presenza di crioglobuline (in tracce) pur con Fattore Reumatoide normale e complementemia C4 ai limiti inferiori della norma (C4 18 mg/dL). I markers di epatite B e C erano però negativi, così come gli indici di flogosi e tutti gli esami di autoimmunità.

Soddisfatti comunque i criteri per la classificazione proposti dal GISC e dal gruppo di De Vita, veniva formulata la diagnosi di SC HCV e HBV negativa.

## **CONCLUSIONI**

Il questionario utilizzato per la classificazione di SC, auto-somministrato alla popolazione generale, ha permesso a un soggetto di arrivare a ipotizzare una diagnosi di una malattia da anni considerata invalidante, con conseguente importante inabilità lavorativa e sociale.

Ha inoltre permesso al soggetto di poter avviare un mirato percorso di diagnosi e cura.

È opportuno uno stretto follow up per la valutazione della diagnosi in una SC essenziale, attualmente senza apparente comorbilità. Il paziente verrà rivalutato anche per escludere la presenza di infezioni da HCV e HBV occulte.

## **LESIONI CUTANEE E TERAPIA ANTIVIRALE IN PAZIENTE CON SINDROME CRIOGLOBULINEMICA HCV CORRELATA IN TRATTAMENTO CON IFN PEGILATO, RIBAVIRINA E BOCEPREVIR**

Castelnovo L<sup>1</sup>, Saccardo F<sup>1</sup>, Novati P<sup>1</sup>, Monti G<sup>1</sup>, Bollani S<sup>2</sup>, Bruno S<sup>2</sup>

<sup>1</sup>U.O Medicina – Ospedale di Saronno – A.O. Busto Arsizio

<sup>2</sup>U.O.C di Medicina Interna, Epatologia e Gastroenterologia – A.O. Fatebenefratelli Oftalmico - Milano

Le manifestazioni extraepatiche da infezione da HCV sono di solito conseguenza di un'attivazione del sistema immune in risposta all'infezione virale che determina una up-regolazione del sistema immune con produzione di autoanticorpi mono e policlonali.

La crioglobulinemia mista (CM) è la manifestazione extraepatica da infezione cronica da HCV più documentata. Si può trovare in più della metà dei pazienti. Di questi il 10% circa sono sintomatici (SCM).

Finora la *standard of care* del trattamento della sindrome crioglobulinemica HCV correlata era basata sull'utilizzo di interferone pegilato (pegIFN $\alpha$ ) e ribavirina, per l'eradicazione virale, eventualmente in associazione a rituximab. La percentuale di guarigioni dell'infezione da HCV, con queste terapie, per il genotipo 1, era circa del 40%.

Recentemente sono stati approvati due nuovi farmaci per la terapia dell'infezione da HCV di genotipo 1, appartenenti alla categoria degli inibitori della serin proteasi virale NS3/4a: il boceprevir e il telaprevir.<sup>1</sup>

L'introduzione di questi farmaci - in associazione a pegIFN $\alpha$  e ribavirina - ha portato la percentuale di risposta al 75% nei pazienti naïve e al 50% nei ritrattati. Non vi sono ancora sufficienti dati per stabilire l'efficacia della triplice terapia sulle SCM.

Tali farmaci possono comunque dare effetti collaterali anche gravi, tali da compromettere l'andamento della cura. Le reazioni cutanee, anche severe, nella forma di rash eczematosi e prurito, sono frequenti.<sup>2</sup> La psoriasi non è descritta come possibile effetto collaterale della terapia con boceprevir, mentre è considerato evento avverso comune delle terapie con interferone. Sono però descritte esacerbazioni delle lesioni cutanee, anche severe, in pazienti psoriasici trattati con boceprevir. Sono altresì riportati casi di miglioramento della psoriasi cutanea in corso di terapia con interferone.

## **CASO CLINICO**

Uomo di 65 anni affetto da epatopatia cronica HCV correlata con associata sindrome crioglobulinemica, già trattato nel 1999 con terapia antivirale combinata con IFN naturale, amantadina e ribavirina, con successivo relapse virale. Negli anni successivi si documentavano ricorrenti episodi di porpora agli arti inferiori, astenia e poliartralgie e persistente riscontro sierico di crioglobuline di tipo II IgG-IgM k con criocrito 1%, FR > 300 UI e C4 < 2 mg/dl. In anamnesi: psoriasi lieve e ipertensione arteriosa.

A marzo 2012, dopo rivalutazione con fibroscan ed epatobiopsia che mostravano una fibrosi epatica moderato/severa, avviava la triplice terapia con boceprevir 800 mg/die, pegIFN $\alpha$  180 mcg/settimana e ribavirina 1.000 mg/die. Dopo la fase di lead-in il paziente ha presentato una riduzione di HCV-RNA di 1 log e a partire dalla 8<sup>^</sup> settimana l'HCV-RNA non risulta rilevabile. Per la comparsa di leucopiastrinopenia, a partire dalla 14<sup>^</sup>, è stata ridotta la dose di pegIFN $\alpha$  a 135 mcg/settimana.

Tra la 10<sup>^</sup> e la 15<sup>^</sup> settimana di trattamento compariva una dermatite esfoliativa palmo - plantare e dopo la 15<sup>^</sup> settimana si verificava una ricomparsa della psoriasi agli arti superiori e inferiori associata a una micosi al tronco, entrambe ben controllate da terapia topica.

Attualmente il paziente è alla 25<sup>^</sup> settimana di terapia, discretamente tollerata; è in buone condizioni generali, permane astenia mentre, dopo l'avvio della terapia, sono migliorate le artralgie e non si sono più verificate poussées di porpora. La dermatite palmo-plantare è in miglioramento.

Agli esami di laboratorio le crioglobuline sono presenti, ma in tracce, il FR è nettamente ridotto (96 UI/mL) e la complementemia C4 è nei limiti di norma. La pancitopenia è stabile.

## **CONCLUSIONI**

La triplice terapia - tuttora in atto per la patologia da HCV - ha migliorato anche la CMS, con risoluzione delle manifestazioni cliniche e netto miglioramento dei parametri di laboratorio. Ha tuttavia determinato la comparsa di dermatite esfoliativa e di lesioni psoriasiche agli arti, ben controllate dalla terapia locale.

Le manifestazioni cutanee potrebbero essere correlate all'utilizzo dei farmaci antivirali e meritano stretto monitoraggio: una terapia adeguata permetterà di continuare il trattamento antivirale per il periodo stabilito, al fine di concludere un iter che, ad ora, si prospetta positivo.

## Bibliografía

1. Berenguer M, López-Labrador FX, *New developments in the management of hepatitis C virus infection: focus on boceprevir*, *Biologics*. 2012;6:249-56. Epub 2012 Aug 3.
2. Ghany MG, Nelson DR, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB; American Association for Study of Liver Diseases *An update on treatment of genotype 1 chronic hepatitis C virus infection: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases*, *Hepatology*. 2011 Oct;54(4):1433-44. doi: 10.1002/hep.24641. Epub 2011 Sep 26. No abstract available.



## **USO DEL QUESTIONARIO, PROPOSTO DAL G.I.S.C PER I CRITERI CLASSIFICATIVI PRELIMINARI DELLA SINDROME CRIOGLOBULINEMICA, COME STRUMENTO DI SCREENING NELLA POPOLAZIONE GENERALE: IL PROGETTO ORIGGIO.**

Castelnovo L<sup>1</sup>, Monti G<sup>1</sup>, Saccardo F<sup>1</sup>, Novati P<sup>1</sup>, Sollima S<sup>2</sup>, Riva A<sup>2</sup>, Quartuccio L<sup>3</sup>, De Vita S<sup>3</sup>, Galli M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>U.O. Medicina – Ospedale di Saronno

<sup>2</sup>Dipartimento di Scienze Cliniche “Luigi Sacco” – Sezione di Malattie Infettive - Università degli Studi di Milano - Ospedale Luigi Sacco

<sup>3</sup>Clinica Reumatologica dell’Università degli Studi di Udine - Azienda Ospedale Universitario di Udine

Le crioglobuline nel siero sono un frequente riscontro nelle infezioni da HCV, ma solo in una minoranza di questi pazienti si sviluppa una vasculite o sindrome crioglobulinemica.

Tra il 2010 e il 2011 abbiamo realizzato il Progetto A.L.CRI – Origgio: uno studio di popolazione, prospettico, trasversale e non interventistico, con lo scopo di stimare la prevalenza della crioglobulinemia mista e della sindrome crioglobulinemica a Origgio, un comune con circa 6.000 abitanti adulti in provincia di Varese.

Dopo una campagna di informazione rivolta a tutti i cittadini, è stato loro recapitato per posta un questionario che comprendeva tre domande già costruite e validate per la classificazione di vasculite o sindrome crioglobulinemica da DeVita e GISC (Gruppo Italiano per lo studio delle Crioglobulinemie).

Le domande sono:

- ricorda uno o più episodi in cui le sono comparsi piccoli puntini rossi o piccole chiazze rosse sulla pelle, in particolare sulle gambe?
- ha mai notato piccole chiazze rosse alle gambe che, alla loro scomparsa, lasciano un alone marrone?
- qualche medico le ha mai detto che soffre di infezione da virus dell’epatite?

Hanno risposto al questionario 1.594 cittadini di Origgio, che rappresentano il 26,4% della popolazione adulta; il 54,3% era di sesso femminile e il 64,5% di età superiore a 49 anni.

Chi forniva almeno due risposte affermative su tre è stato considerato positivo: tra tutti i rispondenti è risultato positivo il 3,1% dei casi.

È stato estratto un campione casuale tra tutti i rispondenti; ognuno di loro è stato contattato e invitato a una valutazione ambulatoriale.

La procedura è stata interrotta quando si è raggiunto il 10% del totale dei rispondenti, secondo le indicazioni dello statistico. Sono stati così valutati 147 cittadini, con visita ed esami di laboratorio comprendenti: markers di epatite C, crioglobuline, complementemia C4, Fattore Reumatoide ed elettroforesi sieroproteica: il 23,1% di essi aveva crioglobuline circolanti, seppure a basso criocrito.

Il rischio di avere crioglobuline circolanti è risultato essere associato, indipendentemente, con bassi livelli di C4 e con la positività per HCV.

In più del 50% dei casi portatori di crioglobulinemia non è stata trovata alcuna comorbilità con correlazione nota per la produzione di crioglobuline.

Queste indagini hanno permesso di diagnosticare ex novo, o confermare, 7 casi di sindrome crioglobulinemica: 5 HCV positivi, 1 associato a infezione da HBV e 1 essenziale.

Da questo studio emerge che le crioglobuline circolanti e le sindromi crioglobulinemiche sembrano essere più frequenti del previsto nella popolazione generale.

Il questionario da noi utilizzato, nello studio originale del GISC<sup>1</sup> era stato validato per la proposta dei criteri classificativi preliminari per la sindrome crioglobulinemica, paragonando: a- sottogruppi di pazienti con vasculite crioglobulinemica; b- pazienti con crioglobuline circolanti; c- pazienti con caratteristiche cliniche e di laboratorio simulanti la vasculite crioglobulinemica senza crioglobuline circolanti.

Inoltre è stato recentemente applicato in pazienti crioglobulinemici HCV positivi e HCV negativi.<sup>2</sup>

In questo nostro progetto è stato, invece, somministrato agli abitanti di Origgio per una auto-compilazione e si è reso utile come strumento per avvicinare la popolazione generale, sensibilizzata dalla campagna informativa.

L'esperienza del Progetto Origgio ci fa supporre che la somministrazione diretta del questionario ai pazienti, da parte di gruppi di Medici di Medicina Generale preparati sul tema, possa essere di maggiore utilità, in un contesto più vicino alla pratica clinica quotidiana. Potrebbe così confermarsi come strumento efficace per lo screening di primo livello per le sindromi crioglobulinemiche (*red flag*), pur scontando una ulteriore selezione del campione in esame.

Uno studio di questo tipo è stato proposto in Regione Lombardia su un più ampio campione selezionato in diverse aree geografiche.

## Bibliografia

1. De Vita S, Soldano F, Isola M, Monti G, Gabrielli A, Tzioufas A, Ferri C, Ferraccioli GF, Quartuccio L, Corazza L, De Marchi G, Ramos Casals M, Voulgarelis M, Lenzi M, Saccardo F, Fraticelli P, Mascia MT, Sansonno D, Cacoub P, Tomsic M, Tavoni A, Pietrogrande M, Zignego AL, Scarpato S, Mazza C, Pioltelli P, Steinfeld S, Lamprecht P, Bombardieri S, Galli M, *Preliminary classification criteria for the cryoglobulinaemic vasculitis*, Ann Rheum Dis. 2011 Jul;70(7):1183-90.
2. Quartuccio L, Isola M, Corazza L, Maset M, Monti G, Gabrielli A, Tzioufas AG, Ferri C, Ferraccioli G, Ramos-Casals M, Voulgarelis M, Lenzi M, Mascia MT, Sansonno D, Cacoub P, Tomsic M, Tavoni A, Pietrogrande M, Zignego AL, Scarpato S, Pioltelli P, Steinfeld S, Lamprecht P, Galli M, Bombardieri S, De Vita S, *Performance of the preliminary classification criteria for cryoglobulinaemic vasculitis and clinical manifestations in hepatitis C virus-unrelated cryoglobulinaemic vasculitis*, Clin Exp Rheumatol. 2012 Jan-Feb;30 (1 Suppl 70):S48-52.



## **SINDROME CRIOGLOBULINEMICA INSORTA DOPO TRATTAMENTO CON INTERFERON ALFA2A PEGILATO (PEG-INF)+ RIBAVIRINA IN PAZIENTE CON EPATOPATIA CRONICA HCV-CORRELATA.**

Casu C<sup>1</sup>, Bruschi E<sup>1</sup>, Schito E<sup>1</sup>, Zahalkova L<sup>1</sup>, Jann S<sup>2</sup>, Muscarà M<sup>1</sup>, Epis OM<sup>1</sup>, Filippini D<sup>1</sup>

<sup>1</sup>S.C. Reumatologia – Ospedale Niguarda Ca' Granda - Milano

<sup>2</sup>S.C. Neurologia – Ospedale Niguarda Ca' Granda – Milano

Paziente (PZ) di 62 anni affetto da epatopatia cronica HCV-correlata (genotipo 1b) da 14 anni.

Nel gennaio 2008 è stata intrapresa dall'Epatologo terapia con (PEG-INF) e ribavirina, ottenendo la negativizzazione della carica virale a partire dal II mese.

Dopo 7 mesi di trattamento il paziente ha sviluppato una sindrome crioglobulinemica caratterizzata da porpora, poliartralgie e ipoestesia ai piedi bilateralmente. L'esame obiettivo neurologico (EON) evidenziava una deambulazione a piccoli passi, tallonante a base allargata, difficoltà ad accovacciarsi e a camminare sulle punte e i talloni. Ipoestesia dolorifica a calza bilaterale (>sx), ipostenia 4/5 MRC alla muscolatura della loggia AL gamba bilaterale, ROT assenti a livello Achilleo, dolori spontanei alla pianta dei piedi. L'elettromiografia documentava una polineuropatia (PNP) sensitivo-motoria assonale ad andamento disto-prossimale agli arti inferiori. Riscontro di crioglobuline in tracce, anticorpi anti-MAG negativi, viremia HCV assente.

La terapia con antivirale è stata immediatamente sospesa e iniziato trattamento con steroide a scalare e gabapentin con lento ma progressivo beneficio. Nel febbraio 2012 residuava solo lieve ipoestesia dolorifica soggettiva distale e simmetrica in assenza di deficit stenici e di aree di iperalgesia e allodinia.

Nel mese di marzo 2012, pur con positività di HCV-RNA a bassa carica (17.000 UI/ml), l'Epatologo ha prescritto un nuovo ciclo con PEG-INF+ribavirina. Dopo 5 mesi di trattamento ha presentato comparsa di porpora, artromialgie e marcato deficit stenico e della sensibilità distalmente ai quattro arti. L'EON evidenziava: grave deficit stenico della muscolatura distale degli arti inferiore e foot drop bilaterale. Meno evidente il deficit della muscolatura degli arti superiori. Ipo-anestesia per tutte le modalità dal ginocchio in giù. Deambulazione atassica. ROT: vivaci il radioflessore, il cubitopronatore, i rotulei e assenti gli Achillei bilateralmente.

Il quadro EMG/ENG dei quattro arti documentava: ineliminabilità dei cMAP dei nervi peronei, tibiali e dei SAP surali, mediani e ulnare destro. Ridotti in ampiezza gli altri SAP e MAP. Denervazione attiva assai marcata distalmente specie agli arti inferiori. Gli esami di laboratorio evidenziavano un criocrito del 2,5% con doppia componente monoclonale IgG-lambda e IgM/kappa, C3 83, C4 1.7, FR 427, HCV-RNA 7.194 UI/mL

Il paziente è stato ricoverato in Neurologia del nostro Ospedale. Il trattamento con antivirale è stato sospeso ed è stata intrapresa terapia con prednisone 50 mg a scalare, pregabalin e duloxetina senza però ottenere un sostanziale miglioramento del quadro clinico neurologico.

Il paziente è attualmente in attesa di essere sottoposto a terapia con Rituximab.

### **CONCLUSIONE**

- L'interferone, a causa delle sue proprietà immunomodulanti, può precipitare o esacerbare una sindrome crioglobulinemica;
- l'inizio della terapia anti-virale andrebbe attentamente considerato nei pazienti con crioglobulinemia che hanno già una neuropatia periferica, soprattutto se motoria;
- una neuropatia periferica insorta in conseguenza della terapia con interferone andrebbe ritenuta fattore predittivo di possibile esacerbazione e peggioramento, anche grave, della neuropatia stessa in caso di ritrattamento con l'interferone.

## **CRIOGLOBULINEMIA MISTA E IMPEGNO POLMONARE**

Frassoni E, Poci C, Rossanese A, Ossi E

Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Clinica Medica I<sup>^</sup>, Università di Padova

La sindrome crioglobulinemica può impegnare, accanto alla triade classica, altri organi con un quadro sintomatologico tipico dell'organo più colpito: ne sono esempi la nefropatia e la neuropatia. Il coinvolgimento polmonare è di solito raro o limitato a un decremento della capacità di diffusione alveolare. Solo in pochi casi in corso di sindrome vasculitica crioglobulinemica si può osservare anche un grave coinvolgimento polmonare con la comparsa di una alveolite emorragica. Studi sulla funzione polmonare fatti in passato su pazienti crioglobulinemici HCV-positivi hanno segnalato una modesta riduzione della funzione respiratoria con la presenza di una alveolite T-linfocitica subclinica. Se la comparsa dell'alveolite emorragica in corso di sindrome vasculitica è facilmente imputabile alla presenza di immunocomplessi circolanti e in situ, non è altrettanto comprensibile la genesi dell'alveolite linfocitica, benché a un livello subclinico, se non ipotizzando un'azione diretta del virus.

È arrivata di recente alla nostra osservazione una donna di 56 anni la cui storia comincia sei anni fa quando, dopo un episodio di broncopolmonite influenzale, cominciò a lamentare una crescente difficoltà respiratoria associata a tosse stizzosa. Indagini allora effettuate da pneumologi, cardiologi e infettivologi, evidenziarono la presenza di un virus dell'epatite C genotipo 4 (carica virale 3.3 milioni), con un criocrito del 2% e un modesto impegno epatico (AST 72, ALT 84, γGT 70). Nei due anni successivi non fece alcun trattamento e la funzione polmonare andò lentamente peggiorando, finché nel 2008, anche a seguito della comparsa di una interstiziopatia, venne formulata diagnosi di sarcoidosi. Venne posta per circa un anno in terapia steroidea ottenendo un franco miglioramento dei sintomi. Nel 2010, a un anno dalla sospensione degli steroidi, il quadro polmonare si aggravò, senza un impegno parallelo in altri distretti (cute, fegato). Anche per corroborare la precedente diagnosi di sarcoidosi, venne sottoposta a biopsia polmonare, che evidenziò fibrosi e presenza di piccoli infiltrati linfoplasmocitari. Il criocrito era presente, ma sempre a valori bassi. Nel gennaio del 2012, dopo la comparsa di artralgie e astenia marcata, venne posta diagnosi di "Iperplasia linfoide in crioglobulinemia mista tipo 2, epatopatia cronica HCV-correlata". Al nostro esame si evidenziarono un lieve impegno epatico (AST 58,

ALT 54,  $\gamma$ GT 84) con fegato ecograficamente normale,  $\gamma$ -globuline al 20%, criocrito del 2% e la presenza di anticorpi ANA con titolo > 1:640, presenza di anticorpi anti-cellule parietali gastriche ed ENA negativi.

Alla luce di questi reperti, l'impegno polmonare, non più ascrivibile alla sarcoidosi, pone diversi interrogativi: pneumopatia da crioglobulinemia? pneumopatia da malattia autoimmune? pneumopatia da azione diretta dell'HCV? Forse l'eradicazione del virus epatitico, se ottenibile, potrebbe contribuire a far luce sui meccanismi patogenetici.

## **RUOLO DI VARIAZIONI DEI PROFILI DI ESPRESSIONE DI MICRORNA NELLA CRIOGLOBULINEMIA MISTA HCV-CORRELATA**

Gragnani L, Fognani E, Piluso A, Giannini C, Monti M, Caini P, Ranieri J, Urraro T, Triboli E, Boldrini B, Laffi G, Zignego AL.

Centro MASVE e Dipartimento di Medicina Interna, Università degli Studi di Firenze

### **BACKGROUND**

I meccanismi patogenetici che determinano l'evoluzione dell'infezione cronica da HCV verso disordini linfoproliferativi (crioglobulinemia mista (CM) e linfomi (LNH)) sono ancora oggi da chiarire completamente. L'identificazione di nuovi biomarcatori per la diagnosi precoce di DLP HCV-correlati e per il monitoraggio della loro evoluzione, rappresenta oggi una questione di primario interesse. Dati recenti hanno giustificato un notevole interesse riguardo al potenziale ruolo di taluni microRNA (miRNA) come biomarcatori in vari settori della medicina. I miRNA sono molecole endogene di RNA a singolo filamento non codificanti, coinvolte nella regolazione dell'espressione genica. Le variazioni dei profili di espressione dei miRNA riflettono l'andamento di processi fisiopatologici e sono correlate a specifici stati patologici. Modifiche nei livelli di espressione di particolari miRNA sono state associate a svariati disordini di natura autoimmune e/o linfoproliferativa, quali l'artrite reumatoide, il LES e la sindrome di Sjogren. A oggi, nessuna informazione è disponibile sul ruolo delle variazioni dei livelli di espressione dei microRNA nella CM HCV-correlata.

### **SCOPO**

Lo scopo di questo studio è stato l'analisi dei livelli di espressione di un panel di miRNA precedentemente implicati nella patogenesi di disordini autoimmuni e/o linfoproliferativi in un'ampia popolazione di pazienti con infezione cronica HCV, con e senza DLP, al fine di identificare potenziali marker di evoluzione verso lo sviluppo di DLP.

### **MATERIALI E METODI**

I livelli di espressione di alcuni miRNA (miR-Let7d, miR-16, miR-21, miR-26b, miR-146a e miR-155) sono stati valutati nelle PBMC dei pazienti tramite Real Time PCR, utilizzando specifici test Taqman MicroRNA in 167 pazienti con infezione cronica HCV: 75 con CM [HCV-CM], 11 con LNH HCV-correlato [HCV-

LNH], 81 HCV positivi senza sintomi o segni di DLP [HCV] e in 36 donatori di sangue [DS] come controlli sani. Un microRNA sintetico (C. Elegans miR-39) è stato utilizzato come controllo esterno.

## **RISULTATI**

I livelli di espressione del miR-146a sono risultati paragonabili in tutti i gruppi studiati. Un incremento significativo di miR-21 ( $p < 0,001$ ), miR-16 ( $p < 0,01$ ) e miR-155 ( $p < 0,01$ ) è stato messo in evidenza nelle PBMC di pazienti con LNH, mentre nessuna alterazione è emersa dallo studio dei livelli di questi miRNA tra i gruppi di pazienti con CM, HCV e DS. Una diminuzione significativa del miR-26b è stata osservata nei soggetti con CM e LNH ( $p < 0,01$ ) paragonati al gruppo dei donatori sani e dei pazienti HCV+. A questo proposito è stato interessante notare un completo ritorno a livelli basali del miR-26b nelle PBMC di 25 pazienti HCV con CM che avevano completamente eradicato l'infezione dopo la terapia antivirale.

## **CONCLUSIONI**

Questo studio, per la prima volta, ha mostrato l'esistenza di una diversa modulazione dell'espressione di taluni microRNA in pazienti con infezione cronica HCV e DLP rispetto a soggetti senza tale patologia. I risultati ottenuti per i miR-21, miR-16 e miR-155 sono in accordo con precedenti dati riguardanti altri modelli di neoplasie linfatiche. La downregolazione del miR-26b nei soggetti con DLP HCV-correlata suggerisce fortemente il potenziale di tale microRNA come marcatore utile sia da un punto di vista diagnostico che prognostico. Studi ulteriori saranno necessari per valutare i precisi meccanismi molecolari che sottendono tale comportamento.

## **DUE CASI DI SCOMPENSO EPATICO DOPO TRATTAMENTO PER RIACUTIZZAZIONE DI NEFROPATIA CRIOGLOBULINEMICA**

Scaini P, Manenti C, Marta E, Mazzucotelli V, Zani R, Liut F, Coccorese F, Belotti E, Cancarini GC

U.O. e Sezione di Nefrologia, Spedali Civili e Università degli Studi di Brescia

Presentiamo i casi di due pazienti, maschi, con crioglobulinemia tipo II (IgG-IgMk) HCV-correlata, glomerulonefrite membrano-proliferativa secondaria, cirrosi HCV correlata (genotipo virale 1b), deceduti in insufficienza epatica dopo inizio di trattamento dialitico.

CASO A- Potus e infezione occulta da HBV (trattata con lamivudina) in anamnesi, esordio di malattia a 56 anni (2003): porpora, alterazioni urinarie, normofunzione renale, ipocomplementemia, criocrito 62%.

2/2009: sCr 1,4 mg/dl, sindrome nefritica/nefrosica con anasarca. Ricovero in Nefrologia: non effettuata terapia steroidea, date la stabilità della funzione renale e l'epatopatia evoluta.

5/2010: incremento della proteinuria e importante astenia; intrapresa terapia con Rituximab (RTX) 0,5 g x 2 a distanza di 2 settimane, con parziale remissione della nefropatia.

6/2011: riattivazione della malattia trattata con RTX 0,5 g; segue remissione (complemento normalizzato, criocrito ridotto, clinica silente) per circa 8 mesi.

2/2012: ripresa di malattia con insufficienza renale rapidamente progressiva. Terapia: RTX 1 g preceduto da metilprednisolone 50 mg; poi prednisone 1mg/kg/die in rapido scalo; non risposta. Urosepsi, trattata. Inizia emodialisi.

Parallelamente, a partire dal 2009, graduale progressione dell'epatopatia: ipertensione portale con ascite e sintomi neurologici correlati (Child A6) e, dal 2/2012, suo rapido peggioramento: encefalopatia iperammoniemica, aumento degli indici di citolisi epatica e colestasi, piastrinopenia, ipoalbuminemia. Riscontro di HCC. Non ulteriori possibilità terapeutiche.

6/2012: Affidato a centro di cure palliative. Decesso.

CASO B- Esordio di malattia a 39 anni (1993): porpora, ipocomplementemia e criocrito 3%. Successiva comparsa di artralgie, neuropatia sensitivo-motoria e ipertensione arteriosa.

4/2009: sCr 1,4 mg/dl, sindrome nefritica. Ricovero in nefrologia: prednisone 1mg/kg/die con successivo scalo; scarsa risposta; non esegue boli di steroide per epatopatia evoluta (ipertensione portale, Stiffness 17,3 kPa al Fibroscan).

3/2010: RTX 1 g x 2 a distanza di 2 settimane con risposta parziale e transitoria: funzione renale stabile, sedimento non più nefritico, proteinuria in aumento.

8/2010: peggioramento clinico: artralgie, porpora, edemi declivi, febbre serotina. Riprende prednisone 1 mg/kg/die con scalo graduale: migliora la sintomatologia, persiste il quadro nefritico, peggiora il quadro epatico (grave piastrinopenia e rialzo degli indici di citolisi epatica e colestasi).

12/2010: sovraccarico idro-salino, peggioramento della funzione renale, rapida evoluzione dell'epatopatia (Child B): iperammoniemia, scompenso ascitico, ipoalbuminemia, complicanze emorragiche correlate alla piastrinopenia. Inserimento in lista per trapianto combinato rene-fegato.

1/2011: aggravamento del quadro neurologico (flapping tremor, stato soporoso) e riattivazione della malattia con rapido deterioramento della funzione renale. Potenziato steroide senza beneficio; necessità di emodialisi.

3/2011: decesso per emorragia subaracnoidea massiva.

## **DISCUSSIONE**

La riattivazione di Nefrite Crioglobulinemica con necessità di trattamento aggressivo nei pazienti con epatopatia evoluta è condizione a elevato rischio di scompenso epatico; il trattamento steroideo, in particolare, sembra esporre il paziente con epatopatia evoluta a maggior rischio di complicanze.

Potrebbe essere opportuno in questi pazienti considerare terapie senza steroide (es. Plasmaferesi + RTX)?

## **RISPOSTA A LUNGO TERMINE AL TRATTAMENTO CON PEG-INTERFRONE E RIBAVIRINA IN PAZIENTE TALASSEMICO CON EPATITE CRONICA DA HCV E CRIOGLOBULINEMIA MISTA. UN CASO CLINICO**

Mazzaro C<sup>1</sup>, Mauro E<sup>2</sup>, Bulian P<sup>1</sup>, Gattei V<sup>1</sup>, Pozzato G<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Unità di Onco-Ematologia Clinica Sperimentale, CRO Aviano

<sup>2</sup>Unità di Ematologia, Ospedale di Cremona

<sup>3</sup>Struttura Complessa di Ematologia Università di Trieste

### **INTRODUZIONE**

Il trattamento dell'epatite cronica da HCV con la terapia di combinazione nei pazienti portatori di beta-talassemia è sempre stato considerato rischioso nel timore di una grave emolisi indotta dalla ribavirina in soggetti con una diseritropoiesi congenita, incapaci quindi di compensare l'anemia con un incremento significativo dell'eritropoiesi. Mancano inoltre grandi trial clinici in questa tipologia di pazienti, anche se numerosi studi su piccole casistiche hanno dimostrato un tasso di risposta virologica sovrapponibile a pazienti non talassemici.

### **SCOPO DELLO STUDIO**

Presentiamo qui il caso clinico di una giovane paziente affetta da  $\beta$ -talassemia, epatite cronica da HCV e crioglobulinemia mista secondaria trattata con Peg-Interferone- $\alpha$  e ribavirina.

### **CASO CLINICO**

Nel marzo 2005 una paziente di 25 anni si presenta alla nostra osservazione per astenia e per la presenza, dal 1998, di alterazione degli indici di funzione epatica a ripetuti controlli. All'anamnesi, uso di eroina e.v. all'età di 18 anni prolungato per 1 anno circa. All'esame obiettivo: Peso: 52 Kg, BMI 20, non segni di insufficienza epatica, non epatomegalia, lieve splenomegalia, porpora agli arti inferiori. Gli esami di laboratorio al momento della nostra prima osservazione sono: G.R.  $4,90 \times 10^6$  /uL, Hb 10,2 g/dL, MCV 67 fL, GB 3.600/uL, PLT 140.000, AST 88 U/L, ALT 96 U/L, ferritina 231 mg/dl, HCV-RNA: positivo, genotipo 2a/c, HCV-RNA:  $1,50 \times 10^6$  UI /ml, C4 10 mg/dl, FR 120 UI/ml, presenza di crioglobuline di tipo II (IgM monoclonale e IgG policlonali), criocrito 2%. Ecografia addome sup.: fegato a ecostruttura regolare, diametro vena porta: 5 mm, splenomegalia omogenea, non segni di ipertensione portale. Biopsia epatica:

epatite cronica attiva METAVIR: A3/F2. Data la microcitosi con ferritina elevata si effettuava un'elettroforesi dell'Hb che indicava una HbA2 del 6% e HbF del 1%. Stante l'anemia, la splenomegalia e un'elettroforesi dell'Hb compatibile, si concludeva per una  $\beta$ -talassemia intermedia.

## **RISULTATI**

Dopo aver valutato i rischi e benefici della terapia antivirale, nel maggio 2006 la paziente inizia la terapia con Peginterferone (PEG-IFN)  $\alpha$ -2b alla dose 50  $\mu$ g sc./sett con Ribavirina 200 mg 2 cp x 2/die. Dopo il primo mese, per una riduzione dell'Hb da 10.2 a 8,0 g/dL, la ribavirina viene ridotta da 800 mg a 400 mg/die, mentre rimane invariata la posologia di PEG-IFN, inoltre si inizia una terapia a base di Eritropoietina 10.000 UI/sett fino a portare i valori dell'Hb 10g/dl.

Al terzo mese compare moderata neutropenia, ma senza necessità di ridurre la dose di PEG-IFN. Alla 12<sup>a</sup> settimana si osserva normalizzazione delle transaminasi con HCV-RNA non rilevabile, confermato alla 24<sup>a</sup> settimana. Alla fine della terapia si ottiene quindi una risposta virologica completa con scomparsa del criocrito. A questo punto la paziente entra in follow-up con controlli ogni 6 mesi. All'ultima visita (giugno 2012) la paziente permane asintomatica, HCV-RNA negativo, transaminasi normali, criocrito assente, Hb 10,8 g/dl.

## **CONCLUSIONI**

La terapia con PEG-IFN e ribavirina utilizzata nella paziente talassemica con epatite cronica e crioglobulinemia mista HCV-correlata è risultata efficace e ben tollerata. Nei pazienti con talassemia minima o intermedia la terapia antivirale è dunque effettuabile, ma i pazienti devono essere seguiti assiduamente per il rischio di anemizzazione che è comunque scongiurato dall'uso di eritropoietina e dall'eventuale riduzione della dose di ribavirina.

## **FONDAPARINUX COME COADIUVANTE NEL TRATTAMENTO DELLE ULCERE CUTANEE RESISTENTI IN CORSO DI SINDROME CRIOGLOBULINEMICA: RISULTATI DI UN GRUPPO PILOTA**

Meroni M<sup>1</sup>, Cannavale T<sup>1</sup>, Caruso L<sup>1</sup>, Botticella G<sup>1</sup>, Casabella A<sup>1</sup>, Paolino S<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio di Ricerca e Clinica Reumatologica, Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche, Università degli Studi di Genova, Genova, Italia

### **OBIETTIVI**

Le ulcere cutanee in corso di Sindrome Crioglobulinemica (MCS) sono un reperto estremamente comune e sovente di difficile gestione<sup>1</sup>. La loro scarsa risposta alle cure convenzionali è nota ed espone il paziente a rischi di complicanze sovrainfettive. Scopo dello studio è stato quello di comprovare l'efficacia della terapia con fondaparinux a dosaggio profilattico nel determinare una più rapida guarigione delle lesioni nei pazienti trattati.

### **MATERIALI E METODI**

Previa approvazione del locale comitato etico e firma da parte dei soggetti del consenso informato, abbiamo esaminato 8 pazienti affetti da MCS-HCV-relata afferenti consecutivamente al nostro centro. La popolazione è interamente di sesso femminile (età  $53 \pm 11,0$  anni), con diagnosi di MCS secondo i criteri proposti da De Vita<sup>2</sup> (datata di  $12 \pm 5$  anni dalla presentazione) e lesioni ulcerative agli arti inferiori dell'estensione di  $24,7 \pm 11,3$  cm di diametro massimo. Tutte le pazienti si trovavano in terapia con corticosteroidi a basso dosaggio ( $2,5 \pm 5,0$  mg di prednisone) e DMARD (methotrexate  $7,5 \pm 5,0$  mg e idrossiclorochina 200 mg *bid*), oltre ad altri trattamenti non attivi sulla condizione di base. È stata intrapresa terapia topica detergente con ringer lattato spray e posizionamento di medicazione combinata microfibra/argento ogni 5 giorni. In mancanza di significativo miglioramento delle lesioni, è stato proposto un successivo *step* (dal 16° giorno) con introduzione, in assenza di controindicazioni mediche, di fondaparinux  $1,5 \pm 1,0$  mg sc/die fino a nuovo controllo (31° giorno).

### **RISULTATI**

Nella totalità del campione, dopo 15 giorni dal *baseline* (fig.1), la riduzione media del diametro delle lesioni è stata di  $2,3 \pm 1,0$  cm (dato non significativo all'analisi statistica tramite t-test di Student,  $p=0,6$ ) (fig. 2). Al successivo controllo, dopo l'introduzione di terapia antiaggregante, le lesioni hanno dimostrato una

remissione media, rispetto al basale, di  $6,8 \pm 3,7$  cm ( $p < 0,01$ ) (fig. 3), con una significatività conservata anche nei confronti del controllo al 15° giorno ( $p < 0,05$ ).

## DISCUSSIONE

Vi sono, in letteratura, isolate esperienze di trattamento delle ulcere in corso di MCS tramite plasmateresi<sup>3</sup> e somministrazione di colchicina ad alte dosi<sup>4</sup>, ma il beneficio della terapia antiaggregante è riportato solo a livello aneddótico. Considerando le basi eziopatogenetiche del danno microvascolare alla base della MCS, e le ulcere cutanee come manifestazione visibile della vasculite dei piccoli vasi tipica della sindrome, abbiamo dunque ipotizzato di poter agire anche a livello periferico con un'antiaggregazione mirata. Se, da un lato, parrebbe controindicato inibire la cascata coagulativa che attiva la fibrina tramite eparina a basso peso molecolare, è tuttavia indispensabile ricordare che fondaparinux esercita un'attività antitrombotica mirata che non prevede l'inibizione della funzionalità piastrinica, già potenzialmente compromessa nei pazienti con MCS.

Figura 1



Figura 2



2

Figura 3



## CONCLUSIONI

Il trattamento adiuvante con fondaparinux in occasione di ulcere cutanee resistenti alla terapia convenzionale necessita di ulteriori dati a suo sostegno, ma non deve essere escluso grazie al sicuro effetto sulla patogenesi delle microtrombosi vascolari. In questa esperienza preliminare, l'efficacia e la sicurezza del farmaco si sono rivelate di buon livello. Un *caveat* deve sempre essere riposto nella possibile coesistenza di trombocitopenia severa e/o insufficienza renale frequentemente riscontrabili nella MCS, che ne scoraggerebbero l'utilizzo.

## Bibliografia

1. Ferri C et al., *Mixed Cryoglobulinemia: demographic, clinical and serologic features and survival in 231 patients*, Seminars in Arthritis and Rheumatism. 2004;33(6):355-74.
2. De Vita et al., *Preliminary Classification Criteria for the Cryoglobulinemic Syndrome*, Arthritis Rheum 2010;62 Suppl 10 :2036.
3. Ramunni A et al., *Double-filtration plasmapheresis in the treatment of leg ulcers in cryoglobulinemia*, J Clin Apher. 2008;23(3):118-22.
4. Chartier M, Falanga V, *Healing of ulcers due to cryofibrinogenemia with colchicine and high-dose pentoxifylline*, Am J Clin Dermatol. 2009;10(1):39-42.



## **SICUREZZA ED EFFICACIA DELLA TERAPIA CON RITUXIMAB IN UNA PAZIENTE CON VASCULITE CRIOGLOBULINEMICA HCV CORRELATA POST TRAPIANTO EPATICO**

Montalbano S, Lubrano D, Tirri E, Corsaro SM

Dipartimento di Medicina Generale e d'Urgenza

U.O.S.D. di Reumatologia

Ospedale San Giovanni Bosco di Napoli

Giungeva alla nostra osservazione nel 2009 donna caucasica di 56 anni per la valutazione di un quadro clinico caratterizzato da porpora palpabile recidivante agli arti inferiori associata a ulcere nelle stesse sedi, neuropatia sensitivo-motoria agli arti inferiori, sindrome nefrosica, poliartrite. Dal 2006 la paziente praticava terapia antirigetto (tacrolimus) post-trapianto epatico effettuato per cirrosi HBV e HCV correlata e immunoprofilassi con immunoglobuline anti epatite B. Veniva effettuata biopsia cutanea che evidenziava una vasculite leucocitoclastica associata a positività a elevato titolo del fattore reumatoide, ipocomplementemia C3 e C4, alterazione degli indici di funzionalità renale, proteinuria di 4,0 g/24 ore, presenza di emazie dismorfiche e cilindri eritrocitari al sedimento urinario, anticorpi anti HCV positivi, HCV RNA quantitativo a basso titolo, genotipo 1b, HBs-Ag negativo, HBV- DNA negativo, criocrito 18% e crioglobulinemia mista di tipo II con componente monoclonale IgM k. Si poneva diagnosi di Crioglobulinemia mista HCV correlata. La paziente veniva trattata con boli di metilprednisolone 500 mg/die i.v. per tre giorni consecutivi ogni 28 giorni con peggioramento rapido delle condizioni renali nel corso dei successivi tre mesi (creatininemia 3mg/dl, azotemia 160 mg/dl, clearance creatininemia 19 ml/min, proteinuria di 5 g/24 ore). Si effettuava pertanto, nel sospetto di PAN associata, biopsia renale che evidenziava un quadro istologico di Glomerulonefrite membranosa proliferativa di tipo I (proliferazione endocapillare costituita da infiltrati leucocitari, prevalentemente monocitari; pseudotrombi endoluminali; necrosi fibrinoide della parete arteriolare con infiltrato linfocitario perivascolare). Si programmava, dopo screening (Rx Torace e Intradermo reazione alla Mantoux), terapia anti CD-20, rituximab, 375 mg/m<sup>2</sup> a settimana per due settimane previa premedicazione con metilprednisolone 100 mg i.v. Dopo sei mesi si otteneva la completa remissione della condizione renale ed infiammatoria articolare, la guarigione delle ulcere e un notevole miglioramento della sintomatologia neurologica periferica, remissione clinica a tutt'oggi sostenuta.

## DISCUSSIONE

La grave condizione nefrologica ha reso necessario un intervento rapido condizionato dalla terapia di immunoprofilassi con anti HBV con immunoglobuline, che ha impedito il ricorso alla plasmateresi. La compromissione renale ha controindicato la terapia antivirale con ribavirina per prevenire la reinfezione HCV post-trapianto.<sup>1,2,3,4</sup> Data la negativizzazione del virus B post-trapianto<sup>5</sup> e la grave vasculite crioglobulinemica la paziente ha intrapreso terapia B depletiva. Il rituximab è un anticorpo monoclonale chimerico che legandosi all'antigene di superficie CD20 sulle cellule B interferisce con la produzione di IgM monoclonali, con la sintesi di crioglobuline e la deposizione di immunocomplessi.<sup>6</sup>

## CONCLUSIONI

La terapia con rituximab può rappresentare una efficace e sicura alternativa alla terapia immunosoppressiva e alla plasmateresi nel trattamento della Vasculite crioglobulinemica HCV correlata con interessamento renale. Inoltre la terapia B depletiva ha dimostrato un'ottima safety durante i due cicli semestrali di trattamento in un paziente post-trapianto epatico non determinando un incremento della carica virale (HCV RNA) né una reinfezione HBV del graft.

## Bibliografia

1. Duclos-Vallée JC, Roche B, Samuel D, *Liver transplantation in patients with hepatitis B virus, hepatitis C virus, or human immunodeficiency virus*, Presse Med. 2009 Sep;38(9):1281-9. Epub 2009 Jul 1.
2. Roche B, Samuel D, *Liver transplantation in viral hepatitis: prevention of recurrence*, Best Pract Res Clin Gastroenterol 2008;22(6):1153-69.
3. Rodriguez-Luna H, Vargas HE, *Management of hepatitis C virus infection in the setting of liver transplantation*, Liver Transpl. 2005 May;11(5):479-89.
4. Davis GL, *New approaches and therapeutic modalities for the prevention and treatment of recurrent HCV after liver transplantation*, Liver Transpl. 2003 Nov;9(11):S114-9.
5. Hanbali A, Khaled Y, *Incidence of hepatitis B reactivation following Rituximab therapy*, Am J Hematol 2009. 84:195.
6. Cacoub P, Delluc A, Saadoun D et al., *Anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) treatment for cryoglobulinemic vasculitis: where do we stand?*, Ann Rheum Dis 2008; 67: 283-7.

## **CRIOGLOBULINEMIA MISTA DI TIPO II - HCV CORRELATA IN TRATTAMENTO CON RITUXIMAB: REMISSIONE CLINICA IN 8 PAZIENTI**

Montalbano S, Lubrano D, Tirri E, Corsaro SM

Dipartimento di Medicina Generale e d'Urgenza

U.O.S. Dipartimentale di Reumatologia Ospedale San Giovanni Bosco di Napoli

ASL Na 1 Centro

### **PREMESSA**

La vasculite crioglobulinemica HCV correlata è una vasculite sistemica caratterizzata dalla presenza di crioglobulinemia mista di tipo II, associata a deposizione di immunocomplessi a livello dei piccoli vasi di organi e apparati. A sostenere la sindrome vasculitica è una espansione B linfocitaria oligo-monoclonale esprimenti il protooncogene Bcl-2, con produzione di anticorpi (crioglobuline) con attività di fattore reumatoide, e conseguente deposizione di immunocomplessi.<sup>1</sup> La terapia "patogenetica" B-depletiva selettiva con anticorpi monoclonali anti-CD20 è considerata una valida alternativa alla terapia "eziopatogenetica" antivirale.<sup>1-4</sup>

### **MATERIALE E METODI**

Sono stati trattati consecutivamente presso la nostra U.O. di Reumatologia 8 pazienti affetti da vasculite crioglobulinemica HCV correlata risultati non responsivi alla terapia antivirale (3 pazienti) o con controindicazioni assolute al trattamento antivirale (i restanti pazienti), con anticorpi monoclonali anti-CD20 (Rituximab) al dosaggio di 375 mg/m<sup>2</sup> a tempo 0 e +15 giorni ogni 6 mesi, per una durata media di circa 2 anni (6 cicli di terapia).

Tutti i nostri pazienti soddisfacevano i criteri classificativi del G.I.S.C. (Gruppo Italiano per lo Studio sulle Crioglobuline) e presentavano al baseline vasculite cutanea leucocitoclastica, crioglobulinemia mista di tipo II con componente monoclonale IgMκ, neuropatia sensitiva degli arti inferiori (3 pazienti), glomerulonefrite membranoproliferativa tipo I (2 pazienti) associata a insufficienza renale, poliartralgie/artrite.

I pazienti (F/M 7:1; età:50-70; mediana:60) sono stati valutati a cadenza semestrale con esame clinico completo, indici di flogosi, indici di funzionalità renale ed epatica, valutazione quantitativa delle crioglobuline sieriche (Criocrito%), proteinuria delle 24 ore, esame chimico fisico delle urine con eventuale tipizzazione delle emazie al sedimento urinario, monitoraggio della

funzionalità renale, HCV-RNA quantitativo, Reuma Test, complementemia C3 e C4, VAS dolore e score delle lesioni purpuriche (3: diffusa e persistente del tronco e degli arti; 2: diffusa e persistente degli arti inferiori; 1: limitata o fluttuante degli arti inferiori; 0: assenza di porpora).

## **RISULTATI**

La terapia ha mostrato efficacia in tempi brevi (6 - 12 mesi) con miglioramento fino alla remissione completa delle manifestazioni purpuriche e delle ulcere e remissione completa delle manifestazioni renali (2 pazienti). I livelli sierici del criocrito si sono ridotti in tutti i pazienti, mentre la complementemia si è normalizzata solo in 2 pazienti.

La carica virale (HCV-RNA) e gli indici di funzionalità epatica hanno mostrato variazioni non significative nelle valutazioni semestrali, ma in nessun caso la terapia ha determinato un incremento significativo della viremia e delle transaminasi.

La terapia non ha causato inoltre né eventi avversi minori e maggiori, né infezioni intercorrenti.

## **CONCLUSIONI**

Questo lavoro mette in evidenza il forte razionale della terapia "patogenetica" B-depletiva con anticorpi anti-CD20 in pazienti con vasculite crioglobulinemica HCV-correlata, in quanto induce una deplezione dei linfociti B responsabili della produzione anticorpale all'origine della vasculite dei piccoli vasi da immunocomplessi, dimostrando un'efficacia rapida nell'indurre la remissione sia delle manifestazioni cutanee che renali. La terapia ha, altresì, dimostrato un'ottima safety.

## **Bibliografia**

1. Zignego AL, Ferri C, Giannelli F et al., *Prevalence of bcl-2 rearrangement in patients with hepatitis C virus-related mixed cryoglobulinemia with or without B-cell lymphomas*, Ann Intern Med 2002;137(7): 571-80.
2. De Vita S, Quartuccio L, Fabris M, *Rituximab in mixed cryoglobulinemia: increased experience and perspectives*, Dig Liver Dis 2007; 39(Suppl.1): S122-8.
3. Zaja F, De Vita S, Mazzero C et al., *Efficacy and safety of rituximab in type II mixed cryoglobulinemia*, Blood 2003; 101: 3827-34.

4. Cacoub P, Delluc A, Saadoun D et al., *Anti-CD20 monoclonal antibody (rituximab) treatment for cryoglobulinemic vasculitis: where do we stand?*, *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 283-7.



# **SINDROME "OVERLAP" SCLEROSI SISTEMICA /VASCULITE CRIOGLOBULINEMICA HCV+:**

## **DESCRIZIONE DI UN CASO COMPLESSO PER LA GESTIONE E PER LE STRATEGIE TERAPEUTICHE**

Perrone VV<sup>1</sup>, Naclerio C<sup>1</sup>, Donadio D<sup>1</sup>, Scarpato S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unità Operativa di Reumatologia  
Ospedale "M. Scarlato" Scafati (Salerno)

### **OBIETTIVI**

La sclerosi sistemica può esordire o complicarsi con una vasculite sistemica e una sindrome crioglobulinemica con la tipica tride sintomatologica (porpora, astenia e artralgie) è una rara associazione patologica.

### **METODI**

In questo report descriviamo un caso di una donna di 70 anni affetta da gangrena digitale arti superiori interstiziopatia polmonare e alveolite attiva HCV positività che contemporaneamente ha sviluppato una Sindrome crioglobulinemica complicata da mono neurite multipla, porpora agli arti inferiori, insufficienza renale con comorbidità costituita da stenosi aortica severa e ipertensione arteriosa. La sierologia mostrava ANA positività ad alto titolo con pattern nucleolare, aumento degli indici di citolisi epatica e di funzionalità renale, positività per il fattore reumatoide, presenza di anticorpi anti HCV. Le indagini strumentali mettevano in evidenza "scleroderma pattern", interstiziopatia, alveolite attiva, pneumopatia del tipo restrittivo, riduzione della DLCO, ectasia della radice e della parte ascendente dell'aorta, calcificazioni aortiche valvolari e una disomogeneità dell'ecostruttura epatica. La misurazione della pressione arteriosa evidenziava una ipertensione arteriosa persistente. L'esame clinico evidenziava una cospicua gangrena digitale alle dita delle mani, sclerodattilia, porpora palpabile e livedo reticularis bilateralmente agli arti inferiori.

### **CONCLUSIONI**

L'inquadramento terapeutico del caso in oggetto ha dovuto tener conto delle comorbidità cardiovascolari, epatiche e renali, giungendo però a un accettabile risultato sia sul danno degli organi colpiti che sulla qualità di vita della paziente. La relazione clinica aggiunge nuove informazioni allo spettro della malattia

sclerodermica e alla necessità, soprattutto in caso di sospetto clinico, di ricercare marcatori di vasculite come potrebbero essere le crioglobuline sieriche.

#### Bibliografia

1. Charles C, Clements P, Furst DE, *Systemic Sclerosis: Hypothesis -driven treatment strategies*, Lancet 2006, 367:1683-91.
2. Ferri C, Zignego AL, Pileri SA, *Cryoglobulins*, J Clin Pathol 2002; 55: 4-13.
3. Ferri C, Mascia MT, *Cryoglobulinemic Vasculitis*, Curr Opin Rheumatol 2006; 18:54-63.

## **CRIOGLOBULINEMIA E VASCULITE CRIOGLOBULINEMICA IN UNA VASTA POPOLAZIONE ITALIANA DI PAZIENTI CON SINDROME DI SJÖGREN PRIMARIA (PSS)**

Quartuccio L<sup>1</sup>, Maset M<sup>1</sup>, Isola M<sup>2</sup>, Salvin S<sup>1</sup>, Baldini C<sup>3</sup>, Priori R<sup>4</sup>, Bartoloni E<sup>5</sup>, Carubbi F<sup>6</sup>, Luciano N<sup>3</sup>, Minniti A<sup>4</sup>, Alunno A<sup>5</sup>, Gregoraci G<sup>2</sup>, Giacomelli R<sup>6</sup>, Gerli R<sup>5</sup>, Valesini G<sup>4</sup>, Bombardieri S<sup>3</sup>, De Vita S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Clinica di Reumatologia, DSMB, Università di Udine

<sup>2</sup>Istituto di Statistica, DSMB, Università di Udine

<sup>3</sup>Unità di Reumatologia, Università di Pisa

<sup>4</sup>Unità di Reumatologia, Università La Sapienza di Roma

<sup>5</sup>Unità di Reumatologia, Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università di Perugia

<sup>6</sup>Clinica di Reumatologia, Università di L'Aquila

### **OBIETTIVO**

La sindrome di Sjögren primaria (pSS) è la malattia autoimmune più comunemente associata alla vasculite crioglobulinemica (VC).<sup>1</sup> La presenza di crioglobuline nella pSS è espressione di un maggior grado di linfoproliferazione B-cellulare, che può esitare nella comparsa di un linfoma, soprattutto nelle ghiandole salivari maggiori, e in particolare nella parotide. La prevalenza di crioglobulinemia e di VC è stata studiata in una vasta popolazione di pazienti con pSS e associata alle caratteristiche cliniche dei pazienti.

### **PAZIENTI E METODI**

Sono stati raccolti retrospettivamente i dati clinici, di laboratorio e istopatologici di 1.170 pazienti affetti da pSS (1.118 femmine, 52 maschi, di età alla diagnosi pari a 51±14 anni).

### **RISULTATI**

La presenza di crioglobuline sieriche è stata testata in 850/1.170 pazienti (72,6%), dei quali il 6,9% (59/850) è risultato positivo. La presenza di crioglobuline era significativamente associata con il sesso maschile ( $p=0,02$ ), la porpora ( $p<0,0001$ ), l'impegno extraghiandolare ( $p<0,0001$ ), in particolare quello renale ( $p=0,002$ ), la presenza di alterazioni ematologiche ( $p<0,0001$ ), la neuropatia periferica ( $p<0,0001$ ), e la fibromialgia ( $p=0,007$ ). Come atteso, la presenza della crioglobulinemia era associata con la presenza di linfoma

( $p < 0,0001$ ), consumo del complemento C3 o C4 ( $p < 0,0001$  per entrambi), leucopenia ( $p < 0,0001$ ), presenza di componente monoclonale serica ( $p < 0,0001$ ), ipergammaglobulinemia ( $p = 0,04$ ), positività per anti-SSB ( $p = 0,005$ ), e per il fattore reumatoide (FR) ( $p < 0,0001$ ). La biopsia delle ghiandole salivari minori o della parotide era risultata positiva in 36/37 pazienti con crioglobuline (di quelli sottoposti a biopsia), e il grado dell'infiltrato linfocitario correlava con un aumentato rischio di crioglobulinemia ( $p < 0,0001$ ; OR 2,8, 95%CI 1,8-4,6).

La vasculite crioglobulinemica (VC)<sup>2</sup> era diagnosticata nel 3,9% (33/850). VC risultava significativamente associata al coinvolgimento extraghiandolare ( $p < 0,0001$ ), e in particolare all'impegno renale ( $p = 0,02$ ), alla presenza di anomalie ematologiche ( $p < 0,0001$ ), e alla presenza di neuropatia periferica ( $p < 0,0001$ ). Come atteso, VC era anche associata alla presenza di linfoma ( $p = 0,001$ ), consumo del complemento C3 o C4 ( $p < 0,0001$  per entrambi), leucopenia ( $p < 0,0001$ ), componente serica monoclonale ( $p < 0,0001$ ), e positività per il FR ( $p < 0,0001$ ). La biopsia delle ghiandole salivari minori e parotidea in tutti i pazienti con VC sottoposti a biopsia diagnostica, i.e., 20/20 e il livello dell'infiltrato linfocitario correlava con un aumentato rischio di VC ( $p = 0,033$ ; OR 1,67, 95% CI 1,04-2,70).

## **CONCLUSIONE**

La crioglobulinemia e la VC in corso di pSS sono espressione di un maggior grado di attivazione di cloni B-cellulari FR-positivi e di un più alto grado di organizzazione in strutture linfoide ectopiche terziarie nelle ghiandole salivari. La crioglobulinemia e la VC sono inoltre associate alla presenza di linfoma nella pSS, suggerendo che la presenza di crioglobuline di per sé rappresenta un segnale d'allarme per la possibile presenza o sviluppo di linfoma nella pSS.

## **Bibliografia**

1. Quartuccio L et al., Clin Exp Rheumatol 2012.
2. De Vita S et al., Ann Rheum Dis 2011.

## **QUALITÀ DELLA VITA E RISPOSTA ALLA TERAPIA CON RITUXIMAB NELLA VASCULITE CRIOGLOBULINEMICA HCV-RELATA**

Quartuccio L<sup>1</sup>, Isola M<sup>2</sup>, Masolini P<sup>1</sup>, Scaini P<sup>3</sup>, Zani R<sup>3</sup>, Tavoni A<sup>4</sup>, Pietrogrande M<sup>5</sup>, Bombardieri S<sup>4</sup>, De Vita S<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Clinic of Rheumatology, Department of Medical and Biological Sciences (DSMB), University of Udine, Udine, Italy

<sup>2</sup>Institute of Statistics, Department of Medical and Biological Sciences (DSMB), University of Udine, Udine, Italy

<sup>3</sup>Nephrology Unit, "Spedali Civili di Brescia", Brescia, Italy

<sup>4</sup>Internal Medicine, Immunology and Rheumatology, University of Pisa, Pisa, Italy

<sup>5</sup>Internal Medicine, University of Milan, Policlinico San Marco, Zingonia (BG), Italy

### **SCOPO DEL LAVORO**

Studiare la qualità della vita (QOL) in nella vasculite crioglobulinemica severa (CV) associata a infezione da virus C dell'epatite (HCV) e descrivere l'effetto di rituximab sulla QOL.

### **MATERIALI E METODI**

QOL è stata valutata con il Medical Outcomes Study Short Form 36 (SF-36). Tale questionario è stato sottoposto a 15 pazienti con CV severa, caratterizzata dalla presenza di glomerulonefrite, neuropatia periferica ingravescente e/o ulcere cutanee. I questionari SF-36 sono stati valutati al basale e dopo terapia con rituximab al mese +3 e +6. Sono stati calcolati i punteggi di sintesi dei domini fisici e mentali (PCS e MCS) secondo i protocolli standard e normalizzati ai controlli sani. I punteggi ottenuti sono stati confrontati con quelli di pazienti HCV positivi senza CV (CHC), e di pazienti con altre vasculiti sistemiche primitive [(granulomatosi con poliangioite (GPA), vasculiti ANCA positive (AAV), arterite di Takayasu(TA)] pubblicati nella letteratura. Sono stati quindi confrontati i punteggi PCS e MCS al basale e nel corso del follow-up dopo terapia con rituximab.

### **RISULTATI**

La CV severa impatta negativamente sia sui domini fisici che mentali dei pazienti se confrontati con la popolazione sana (tabella 1). Questo risulta anche dai punteggi di sintesi, PCS e MCS, da cui si deduce un maggiore coinvolgimento della componente fisica (tabella 1). La QOL della CV severa è paragonabile alla QOL riportata per le vasculiti dei piccoli vasi e peggiore alla QOL della arterite di

Takayasu per quanto riguarda il punteggio PCS (tabella 1). Lo sviluppo di CV nei pazienti HCV positivi impatta soprattutto sui domini fisici piuttosto che su quelli mentali (tabella 1). La terapia con rituximab migliora i punteggi PCS e MCS già a tre mesi (30±10 vs 37±11, p=0,002, e 39±10 vs 47±10, p=0.041), e il miglioramento si mantiene a 6 mesi (36±11, p=0.69 per PCS mese+3 vs PCS mese +6; 47±10, p=0,91 per MCS mese +3 vs MCS mese +6).

## CONCLUSIONI

Il punteggio di PCS, piuttosto che di MCS è peggiorato nei pazienti HCV positivi, quando la CV è presente. Rituximab migliora la QOL sia per quanto riguarda i domini fisici che mentali, supportando in tal modo il suo utilizzo prima della terapia antivirale nelle forme severe di CV HCV-relata.

Tabella 1

dominio	Punteggio medio grezzo (ES)	Z-score medio
PF	34,3 (7,3)	-2,2
RP	20 (10,7)	-1,8
BP	36,7 (8,1)	-1,6
GH	33 (5,5)	-1,9
VT	36,3 (6,3)	-1,2
SF	45,8 (8,5)	-1,7
RE	22,2 (10,6)	-1,8
MH	56,7 (5,1)	-1,0
PCS	29,7 (2,6)	
MCS	39,2 (2,8)	
PCS CHC	49 (0,8)*	
MCS CHC	43 (0,9)	
PCS AAV	27,6 (0,7)	
MCS AAV	40,4 (0,6)	*p<0.0001 by t-test
PCS GPA	33,5 (0,7)	**p<0.01 by t-test
MCS GPA	44,2 (0,9)	
PCS TA	39,2 (1,0)**	
MCS TA	44,5 (1,0)	

[physical functioning (PF), role physical (RP), bodily pain (BP), general health (GH), social functioning (SF), role emotional (RE), mental health (MH), vitality (VT)]

# **SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS (SNPS) OF IL-28B AND VIROLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL/MOLECULAR RESPONSE OF PATIENTS WITH HCV-RELATED TYPE II MIXED CRYOGLOBULINEMIA**

Russi S, Conteduca V, Pavone F, De Gennaro V, Lauletta G, \*Serviddio G, Sansonno D

<sup>1</sup>Liver Unit, Department of Biomedical Sciences and Human Oncology, University of Bari

\*Department of Experimental and Clinical Sciences University of Foggia

## **BACKGROUND**

Type II mixed cryoglobulinemia (MC) is the major extrahepatic manifestation of chronic HCV infection. Effective antiviral therapy may prevent clinical complications, but the current treatment is unable to achieve a complete therapeutic response which includes virological (HCV RNA clearance), immunological (disappearance of the cryoprecipitate), and molecular (undetectable circulating B cell clones) components. Thus, identification of determinants of response to treatment is a high priority.

## **OBJECTIVE**

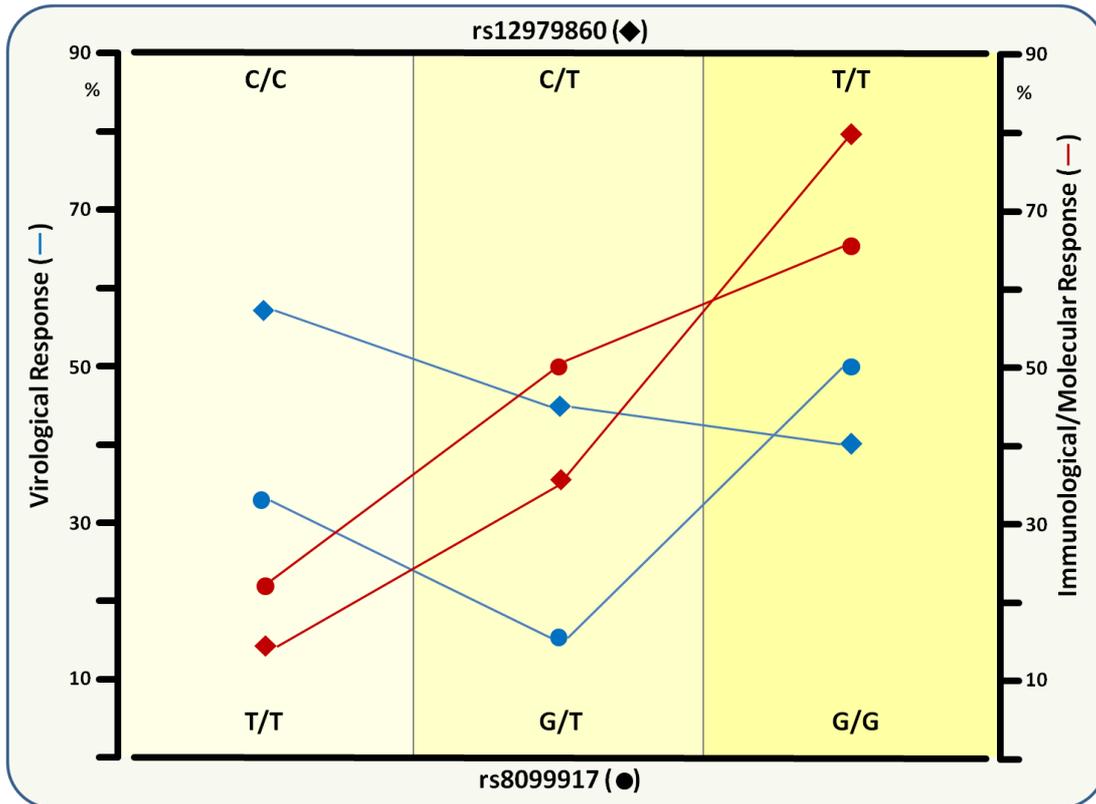
To assess the association of IL-28B single nucleotide polymorphisms (SNPs) and complete therapeutic response of patients with HCV-related Type II MC.

## **METHODS**

IL-28B genotyping of the tagSNP rs12979860 and rs8099917 was performed by TaqMan allelic discrimination in patients infected with HCV genotype 1b. Forty-five patients with and 53 patients without MC were included. Patients received PEG-Interferon- $\alpha$  plus ribavirin for 48 weeks.

## **RESULTS**

The frequency rate of IL-28B rs12979860 and rs8099917 SNPs C/T and T/G allele distribution in MC patients was not different from that found in those lacking MC. It was also found that IL-28B genotype was not related to cryocrit values and to serum IFN- $\lambda$ 3 levels. An unexpected finding was the observation that, while the IL-28B CC /rs12979860) and T/T/rs8099917 seemed to protect in terms of virological response, the TT/rs12979860 and GG/rs8099917) significantly associated with immunological /molecular response, as shown in the figure.



### CONCLUSIONS

SNPs of IL-28B and response to PEG-interferon- $\alpha$ /ribavirin therapy were shown to be strictly associated in HCV-related MC patients. Both the CC/rs12979860 and TT/rs8099917 alleles could be used as independent predictors of the virological response. The IL-28B polymorphisms can also contribute to explain the difference in response rate as regards immunological/molecular features, in that cryoproteins and peripheral B-cell clonotypes persisted in spite of sustained HCV RNA clearance. Both TT/rs12979860 and GG/rs8099917 were independently associated with disappearance of cryoglobulins in HCV-related MC.

## **TRIPLICE TERAPIA CON BOCEPREVIR IN PAZIENTI CON CRIOGLOBULINEMIA MISTA**

Urraro T, Gragnani L, Fabbrizzi A, Monti M, Ranieri J, Caini P, Piluso A, Fognani E, Arena U, Moscarella S, Stasi C, Laffi G, Zignego AL

Centro *MASVE* e Dipartimento di Medicina Interna, Università degli Studi di Firenze.

### **BACKGROUND**

La crioglobulinemia mista (CM) è riscontrabile nella maggior parte dei pazienti HCV positivi come dato bioumorale, mentre una sindrome crioglobulinemica definita (SCM) è stata descritta in percentuali variabili fra il 5 e il 30% di tali casi. La terapia antivirale standard (SoC) con interferone-peghilato (PEG-IFN) e ribavirina (RBV) rappresenta oggi la prima opzione terapeutica nei casi di SCM da lieve a moderata, ma non esistono dati sugli effetti degli antivirali diretti (DAA).

### **SCOPO**

Questo studio si propone di valutare l'effetto della tripla terapia con Boceprevir (BOC), PEG-IFN e RBV in pazienti con CM HCV-correlata.

### **PAZIENTI E METODI**

35 pazienti HCV G1 (29 G1b/6 G1a) (20 maschi/15 femmine; età media 57,45) sono stati consecutivamente trattati con tripla terapia BOC+PEG-IFN  $\alpha$ -2b e RBV. I pazienti non avevano risposto a un precedente trattamento antivirale secondo la SoC e presentavano una fibrosi avanzata (F3-F4). 24/35 pazienti presentavano CM (criocrito medio 4,8%), e tra questi 10 avevano SCM lieve o moderata (secondo i criteri De Vita et al., Ann Rheumatic Dis 2011). I rimanenti 11 pazienti non presentavano segni bioumorali e/o evidenze cliniche di CM e sono stati utilizzati come controlli. Per tutti i pazienti è stata eseguita un'accurata valutazione clinica e una determinazione del criocrito prima e dopo la terapia, a intervalli mensili. La durata media di questo studio è stata di 34 settimane (27-38).

### **RISULTATI**

La tripla terapia con BOC risultava ben tollerata, infatti fra i diversi gruppi non sono state osservate differenze significative per eventi quali l'interruzione del trattamento dovuto a EA o a breakthrough virologico. Durante la fase di lead-in

(prime 4 settimane di SoC), il criocrito diveniva negativo in 5 pazienti, rimaneva stabile o mostrava un lieve decremento in 11, mentre nei rimanenti 8 casi (di cui 4 con SCM) si osservava un effetto paradossale di incremento. Dopo l'introduzione di BOC si evidenziava un rapido decremento del criocrito nei pazienti ancora positivi, con in particolare una rapida negativizzazione nei pazienti in cui si era registrato un aumento paradossale durante il lead-in.

Nel complesso, in 19/24 pazienti con CM si osservava una negativizzazione del criocrito dopo 4-8 settimane dall'introduzione del BOC. Nonostante l'effetto confondente della terapia sulla valutazione della risposta clinica, in tutti i pazienti con SCM è stato possibile osservare la regressione della porpora e un complessivo miglioramento degli altri sintomi tipici della sindrome, come ad esempio l'artralgia. Con il procedere della terapia, i valori di criocrito sono risultati generalmente in linea con l'andamento della risposta virologica, con una ricomparsa nei pazienti che ricadevano virologicamente. È interessante che in due pazienti che hanno interrotto il trattamento per breakthrough virologico, l'aumento del criocrito anticipava la ricomparsa di viremia determinabile.

## **CONCLUSIONI**

I dati preliminari di questo studio, ancora in corso, suggeriscono fortemente che la triplice terapia con BOC sia sicura ed efficace anche in pazienti con CM. L'effetto drammatico del BOC sul criocrito sottolinea il ruolo chiave della replicazione dell'HCV nella CM. La ricomparsa della crioglobulinemia prima della viremia osservata in alcuni casi, suggerisce che l'espansione clonale B possa essere innescata da una minima replicazione intracellulare (epatociti/cellule B) del virus.

