UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI ROMA "TOR VERGATA"
DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA
LABORATORIO DI ONCOLOGIA SPERIMENTALE E ISTOLOGIA

Relazione scientifica finale (13/10/2014)

"Effetto epatoprotettivo della somministrazione di ***Citexivir*** *in pazienti con epatite cronica da HCV"*

INTRODUZIONE:

L'**epatite C** è una malattia infettiva, causata dall' *Hepatitis C virus* (HCV), che colpisce in primo luogo il fegato. L'infezione è spesso asintomatica, ma la sua cronicizzazione può condurre alla cicatrizzazione del fegato e, infine, alla cirrosi epatica, che risulta generalmente evidente dopo molti anni. In alcuni casi, la cirrosi epatica può condurre ad altre patologie. L'HCV è trasmesso principalmente per contatto diretto con il sangue infetto, spesso dovuto all'uso di droghe per via endovenosa, a presidi medici non sterilizzati e trasfusione di sangue. Si stima che circa 130-170 milioni di persone al mondo siano infettate dal virus dell'epatite C. L'esistenza dell'epatite C, in origine definita "epatite non A non B", è stata ipotizzata nel 1970 e confermata nel 1989.

Il virus persiste nel fegato di circa l'85% delle persone infette. Questa infezione persistente può essere trattata con farmaci quali l'interferone α e la ribavirina, che rappresentano la terapia di riferimento. Complessivamente il 50-80% dei pazienti trattati guarisce, mentre coloro che sviluppano cirrosi o cancro possono necessitare di un trapianto di fegato. Al 2014 nessun vaccino efficace contro l'epatite C è ancora disponibile.

Metodi:

Studio clinico a doppio cieco, con placebo, condotto per **12 settimane**, su di un totale di **36 pazienti** di sesso maschile con epatite cronica istologicamente confemata, da infezione da **HCV genotipo 1** (frequenza ca. 60%), e livelli persistentemente elevati di Alanina Aminotrasferasi (ALT) di Aspartato Aminotrasferasi (AST) e di Gamma-Glutamil-trasferasi (GGT)1.

1. Bani-Sadr, F. Lapidus, N; Rosenthal, E; Gerard, L; Foltzer, A; Perronne, C; Cacoub, P. Gamma Glutamyl Transferase Elevation in HIV/Hepatitis C Virus-Coinfected Patients During Interferon-Ribavirin Combination Therapy JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes. 2009, 50(4),429-430

Trattamento

3 gruppi di trattamento: **Gruppo A** (12 pazienti): **Controlli-placebo**, somministrazione di una soluzione di saccarosio (10g/100 ml in acqua) secondo protocollo sperimentale (1). **Gruppo B** (12

pazienti): **Trattati a bassa dose**, trattamento per via orale secondo protocollo 1 (1:4 v/v). **Gruppo C** (12 pazienti): **Trattati ad alta dose,** trattamento per via orale secondo protocollo 2 (1:2 v/v).

Controlli:

L'efficacia del trattamento è stata valutata attraverso il monitoraggio delle modifiche delle attività circolanti di **ALT, AST e GGT** come markers del danno epatico. Inoltre è stato dosato il titolo virale per mezzo del **HCV-RNA** confrontato con i livelli del saggio **anti-C100-3**. La sicurezza e la tollerabilità del trattamento sono state valutate sulla base degli eventi clinicamente avversi e risultati dei test di laboratorio[2]

2. Chien D.Y. et al.Diagnosis of hepatitis C virus (HCV) infection using an immunodominant chimeric polyprotein to capture circulating antibodies: reevaluation of the role of HCV in liver disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 1992 89(21):10011-5.

Risultati:

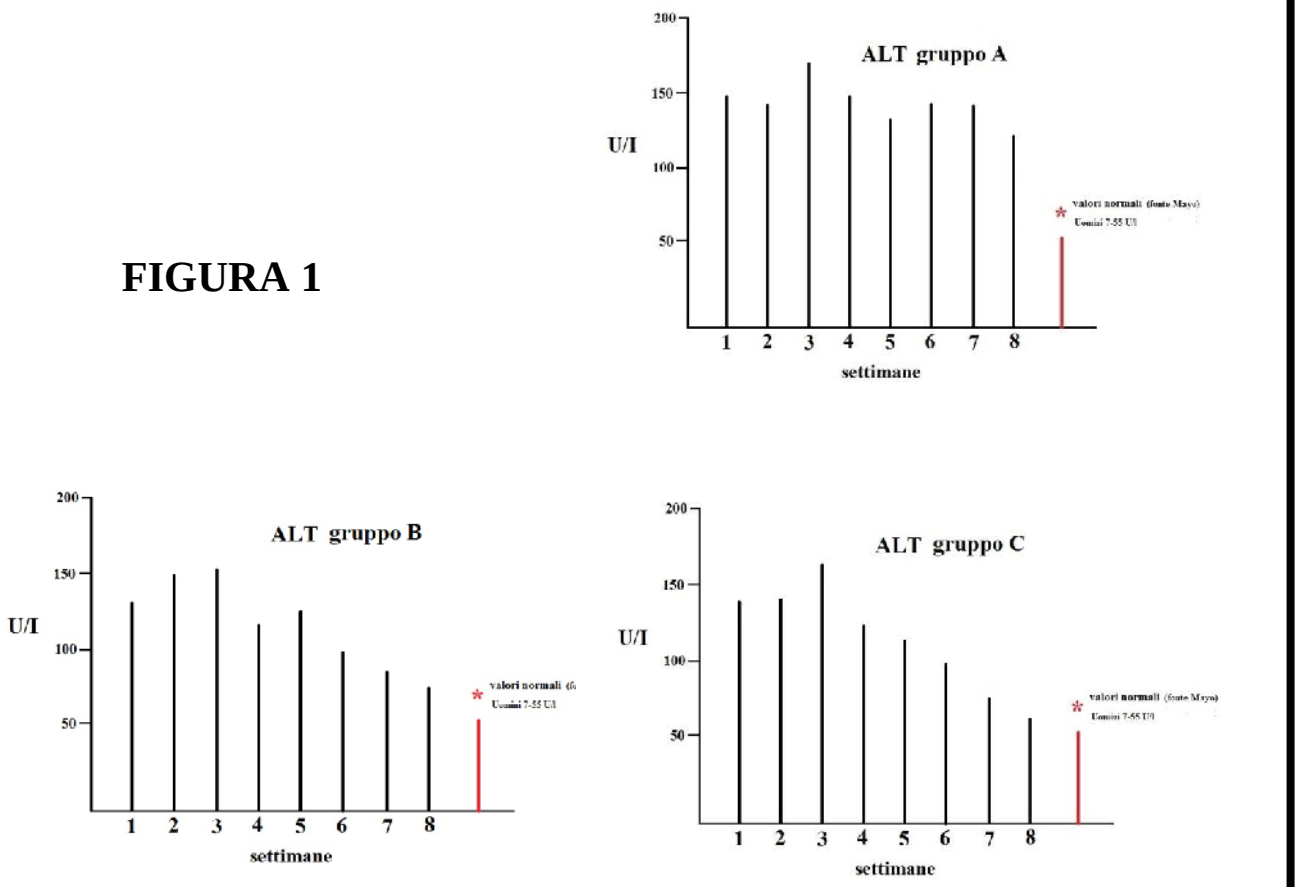
Tutti e 36 pazienti erano infettati da **HCV genotipo 1** e hanno completato lo studio senza alcuna violazione del protocollo sperimentale. Tutti e 36 pazienti risultavano sotto terapia farmacologica.

- 10 pazienti seguivano la terapia con **interferone α e ribavirina**,
- 20 pazienti erano trattati con **boceprevir (*Victrelis*)**
- 6 pazienti trattati con **interferone α, ribavirina e telaprevir (*Incivo*).**

Risultati Alanina Aminotrasferasi ALT:

I valori presentati in **figura 1**, sono stati ottenuti dalla media dei 12 valori di attività di ogni paziente analizzata per ogni settimana. Le variazioni dalla media non hanno mai superato il 15%. E' evidente la riduzione dei valori enzimatici a partire dalla 4^ settimana di trattamento. Il gruppo B ha raggiunto dopo 8 settimane di trattamento una riduzione dei valori di ALT del **36**%, mentre il gruppo C ha raggiunto nello stesso periodo una riduzione del **46**%. La curva di riduzione appare molto regolare nel gruppo C quando comparato con il gruppo B.

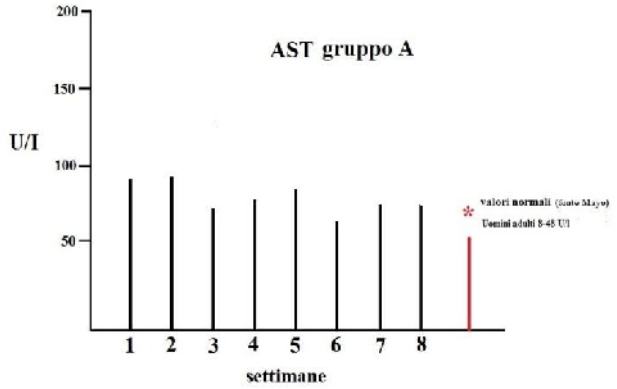
FIGURA 1

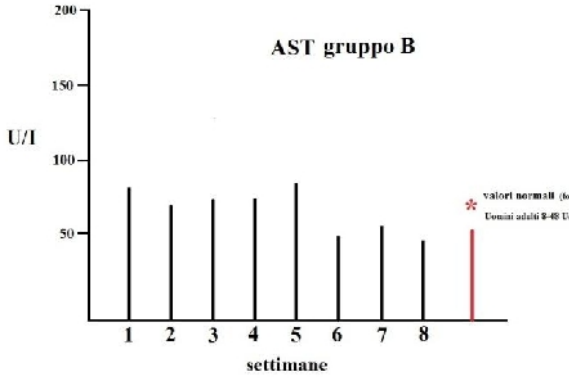


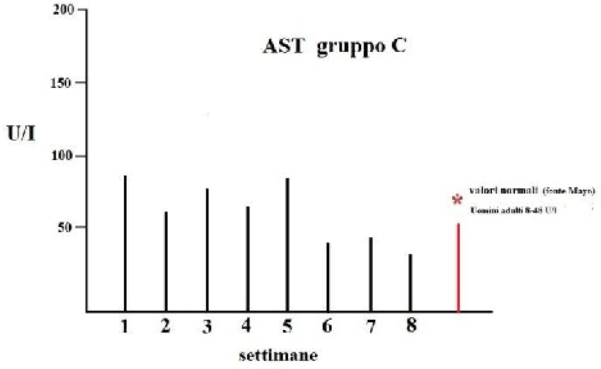
<u>Risultati Aspartato Aminotrasferasi</u> <u>AST</u>:

I valori enzimatici relativi ad AST, di norma non subiscono ampie variazioni durante l'infezione da HCV. Ovviamente il dato può variare negli individui. i valori presentati in **figura 2**, sono stati ottenuti dalla media dei 12 valori di attività di ogni paziente analizzata per ogni settimana. Le variazioni dalla media non hanno mai superato il 15%. E' evidente la riduzione dei valori enzimatici a partire dalla 6^ settimana di trattamento. Il gruppo B ha raggiunto dopo 8 settimane di trattamento una riduzione dei valori di ALT del **41**%, mentre il gruppo C ha raggiunto nello stesso periodo una riduzione del **59**%. La curva di riduzione appare simile nei due gruppi analizzati.

Figura 2



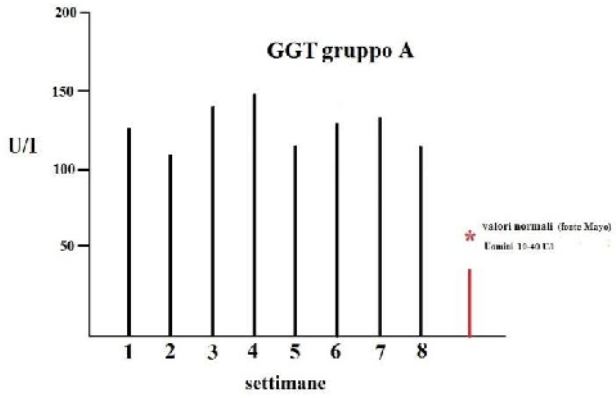


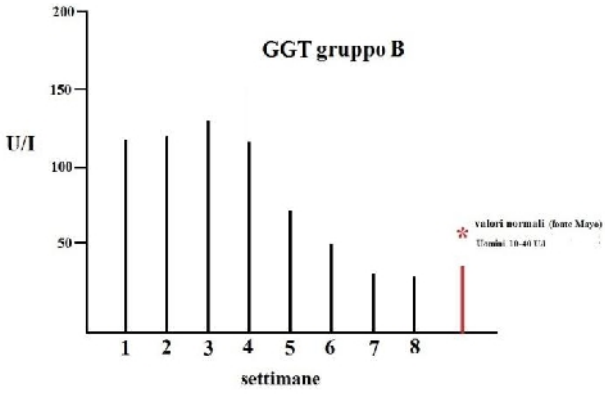


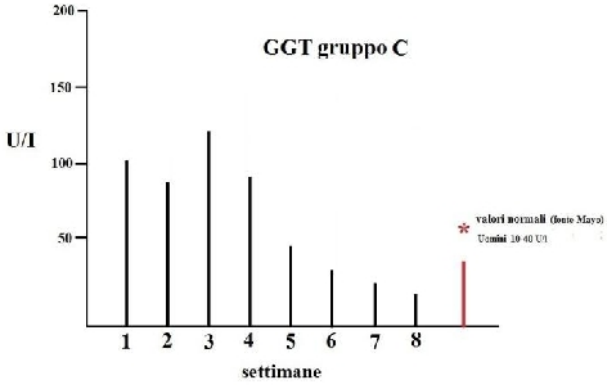
<u>Risultati Gamma glutamil transferasi – GGT</u>:

I valori enzimatici relativi al GGT, di norma subiscono ampie variazioni durante l'infezione da HCV. E' anche noto che il trattamento farmacologico non riesce a ridurre tali livelli enzimatici in tempi brevi. La **figura 3**, mostra i valori ottenuti dalla media dei 12 valori di attività di ogni paziente analizzata per ogni settimana nel gruppo specifico. Le variazioni dalla media non hanno mai superato il 15%. Anche in questo caso è evidente la riduzione dei valori enzimatici a partire dalla 5^ settimana di trattamento per il gruppo B e dalla 4^ per il gruppo C. Il gruppo B ha raggiunto dopo 8 settimane di trattamento una riduzione dei valori di GGT del **72**%, mentre il gruppo C ha raggiunto nello stesso periodo una riduzione del **84**%. La curva di riduzione appare simile nei due gruppi analizzati.

Figura 3







Risultati saggio HCV-RNA

I pazienti trattati (24 unità) e non trattati (12 unità) sono stati sottoposti al saggio del HCV-RNA . Lo RNA del virus dell 'epatite C comprende geni che codificano per proteine strutturali e non. L'HCV-RNA è espressione della replicazione del virus e compare nel siero qualche giorno prima dei segni di danno epatico, alcune settimane o mesi prima della comparsa dell'anti C-100-3. Si rileva mediante la tecnica della PCR. Il test è estremamente sensibile e presenta pertanto elevati falsi positivi. Per la sua costante positività il saggio deve essere ripetuto frequentemente per una valutazione del decorso della malattia. 20 pazienti presentavano inizialmente valori di HCV-RNA superiori a $1x10^6$ U.I./ml. 16 pazienti presentavano valori di HCV-RNA in un intervallo da $8x10^5$ a $1x10^6$ U.I./ ml. I risultati in tabella sono espressi come percentuale di riduzione rispetto ai controlli posti a 100. Si evince una riduzione del titolo virale del **30%** nel gruppo A e del **48%** nel gruppo B.

Risultati saggio anti-C100-3

La positività del saggio anti-C100-3 è stata ottenuta nel 40% dei casi osservati e giudicata non significativa nei confronti del trattamento effettuato.

Tabella I - riassuntiva

Riduzione percentuale dei valori enzimatici e della viremia in pazienti affetti da epatite da HCV. I valori rappresentano la media percentuale di riduzione rispetto al controllo (gruppo A) posto a 100.

gruppi	ALT	AST	GGT	HCV-RNA
gruppo A	100 %	100 %	100 %	100 %
gruppo B	36%	41%	72%	30 %
gruppo C	46%	59%	84%	48 %

Conclusioni

Dai dati sperimentali ottenuti si evince che il trattamento per via orale con Citexivir, di pazienti affetti da infezione di HCV genotipo 1, influenza marcatamente i valori di tre attività enzimatiche marker di sofferenza epatica. In particolare l'attività enzimatica sensibilmente ridotta concerne la GGT. Le attività ALT e AST vengono anche loro ridotte sensibilmente. I dati presentati mostrano anche la riduzione della replicazione virale ottenuta con il saggio del HCV-RNA. Inoltre viene dimostrata la bassa attendibilità della ricerca dell'anti-C100-3, come riportato da diversi autori (2). La presente ricerca non ha la pretesa di suggerire il trattamento riportato come terapia per la cura dell'infezione da HCV, ma i dati ottenuti potrebbero tendere verso la possibilità di somministrazione di un integratore alimentare come il Citexivir a supporto della terapia farmacologica ufficiale.

Roma 14 Ottobre 2014

Dott. Francesco Antonelli **Prof. Simone Beninati**



