

LA FILTRAZIONE A CASCATA NEI PAZIENTI HCV POSITIVI

Alfonso Ramunni¹, Paola Brescia¹, Maria Burzo¹, Lucia Vernò¹, Luigi Rossi¹, Maria Rendina²

¹Sezione di Nefrologia, Dipartimento di Medicina Interna e Medicina Pubblica, Università di Bari, Bari

²Sezione di Gastroenterologia, Dipartimento dell'Emergenza e dei Trapianti d'Organo, Università di Bari, Bari

Effects of cascade filtration in combination with interferon and ribavirin in the treatment of non responder chronic hepatitis C patients

In 40% of patients with chronic hepatitis C, standard therapy is unable to eradicate the virus. Since the response to pharmacological treatment depends on the initial viral load, there is a rationale for reducing this load by means of apheresis depletion of the C virus.

The aim of this work was to administer cascade filtration (CF) to non responder patients affected by hepatitis C (pts) before resuming the pharmacological treatment.

10 pts underwent 12 sessions of CF, 3 per week (treated plasma volume/session: 3000 mL). After the first week, therapy with PEG-IFN (1.5 µg/Kg/week) plus Ribavirin (1200 mg/day) was added.

The viral load was determined before and after each CF session, and at the 1st, 3rd and 6th month. The mean pre-apheresis viral load dropped from 2176275±3109997 U/mL at the first session to 1486726±2091975 U/mL by the fourth ($p<0.001$), and 347500±637428 U/mL before the last ($p<0.001$).

The mean percentage reduction of the viral load went from a minimum of 29.5% to a maximum of 42%. Early viral response (EVR) was obtained in 70% of these patients as compared with only 10% in an age- and sex-matched control group consisting of 10 patients. Unfortunately, we did not get the same good results in terms of sustained viral response (SVR: 10% in apheresis patients vs 0% in the control group).

Efficacious removal of HCV was obtained with CF. However, the successful reduction in the viral load achieved with apheresis in terms of EVR was not confirmed when we considered the SVR.

Conflict of interest: None

KEY WORDS:

Double filtration plasmapheresis, Chronic hepatitis, HCV kinetics, Sustained viral response, Early viral response

PAROLE CHIAVE:

Filtrazione a cascata, Epatite cronica, cinetica dell'HCV, Risposta virologica sostenuta, Risposta virologica precoce

Indirizzo degli Autori:

Dr. Alfonso Ramunni
Sezione di Nefrologia
Dipartimento di Medicina Interna e
Medicina Pubblica
Università di Bari
Piazza Giulio Cesare 11
70124 Bari
e-mail: a.ramunni@nephro.uniba.it

INTRODUZIONE

Nonostante i recenti progressi nella terapia dell'infezione cronica da virus dell'epatite C (HCV), una risposta virologica sostenuta (SVR), che significa la scomparsa di una carica virale apprezzabile nel siero del paziente a 18 mesi dall'inizio del trattamento con interferone peghilato e ribavirina, è ancora insoddisfacente nei portatori del genotipo 1 dell'HCV.

Come è noto, l'HCV rappresenta una delle più importanti cause di epatopatia cronica al mondo. Circa l'80% dei soggetti affetti da epatite acuta legata al virus C progredisce verso l'epatite cronica. La cirrosi

si sviluppa nel 10-20% dei pazienti con epatite cronica C e rappresenta la più frequente indicazione al trapianto di fegato nei paesi occidentali (1).

Il trattamento corrente per pazienti affetti da HCV prevede la combinazione di interferone peghilato e ribavirina. Ciononostante, come riportato in letteratura, anche l'associazione di questi due farmaci, somministrati per 48 settimane, non si è dimostrata in grado di risolvere l'infezione in circa il 40% dei soggetti (2, 3). Sono, pertanto, in corso intense ricerche al fine di affiancare nuove modalità di trattamento a quelle già in uso.

È, comunque, lecito porsi una domanda nell'affrontare il problema. Quali possono essere i fattori che

rendono difficile acquisire una SVR? La risposta al quesito è in un articolo di Zeuzem et al. (4), i quali verificarono che condizioni quali una giovane età, l'assenza di cirrosi, un genotipo diverso dal tipo 1 e una carica virale di partenza inferiore a 2 milioni di copie per millilitro rappresentavano condizioni favorevoli al raggiungimento di una scomparsa del *virus*. Considerando la carica virale, esistono dati della letteratura (5, 6) che ribadiscono l'importanza di una quota iniziale ridotta di *virus* circolante nel raggiungimento di una guarigione. Da queste informazioni preliminari, è cresciuto l'interesse della classe medica per qualsiasi metodo fosse capace di sottrarre fisicamente il *virus* dal circolo e di realizzare, cioè, un'afèresi del *virus*.

RIMOZIONE DELL'HCV CON PLASMA EXCHANGE E LDL AFERESI

I primi tentativi in tal senso furono effettuati ovviamente con il *plasma exchange*. Tale metodica consente, infatti, di rimuovere una parte di plasma che contiene il *virus* e di sostituirla con una soluzione di rimpiazzo priva della particella virale. Risalgono alla fine degli anni '90 le prime esperienze in tal senso, che avevano soprattutto lo scopo di studiare la dinamica dell'HCV a seguito delle perturbazioni indotte dal *plasma exchange*.

Nello studio di Manzin et al. (7), dopo un iniziale declino della viremia a seguito dell'afèresi, la carica virale si riportava entro sei ore ai livelli di partenza, tanto da far concludere agli Autori che il rapido ripristino della viremia fosse conseguenza dell'elevata capacità di replicazione virale dell'HCV. Risultati sovrapponibili furono riscontrati da Ramratnam et al. (8): pronta risalita della viremia subito dopo la conclusione dell'afèresi. Quindi, nessuna azione del *plasma exchange* sulla replicazione virale e solo un transitorio effetto sulla *clearance* del *virus*.

Dopo queste prime esperienze, considerando che la particella virale era stata vista associarsi alla lipoproteina B, venne avanzata l'ipotesi che il recettore per il colesterolo LDL potesse servire anche quale recettore del *virus*, mediando il suo ingresso negli epatociti, tanto che si pensò all'impiego della LDL afèresi per rimuovere l'HCV.

In un lavoro di Schletter et al. (9), l'uso della LDL afèresi, in 6 pazienti HCV positivi e resistenti alla terapia farmacologica, consentì una riduzione media della viremia superiore al 75%, con un declino che non sembrò correlarsi alla riduzione del colesterolo LDL. Anche in questo caso, però, la viremia rimase bassa solo per una media di 4-8 ore, per risalire poi ai livelli pre-aferefici.

Ma come si poteva passare dagli studi di cinetica del *virus* a esperienze applicative che dimostrassero la reale efficacia dell'afèresi nella risposta clinica dei pazienti HCV positivi?

LA FILTRAZIONE A CASCATA NEL TRATTAMENTO DI PAZIENTI HCV POSITIVI

La risposta va ricercata nelle caratteristiche della particella virale. Come è possibile osservare al microscopio elettronico, la particella virale possiede un diametro di circa 55-65 nanometri (10), così se dopo un sistema primario che separa il plasma dalla componente corpuscolata del sangue piuttosto che buttare via una parte di quel plasma lo processiamo in un sistema secondario il cui filtro ha pori di un diametro di 30 nm, è teoricamente possibile intrappolare il *virus* nel filtro secondario.

È questo il principio della filtrazione a cascata, meglio conosciuta come "*double filtration plasmapheresis*" (DFPP), il cui schema è mostrato nella Figura 1. Partendo da tale concetto, si sono sviluppate esperienze in cui, nei pazienti difficili perché portatori di genotipo 1b, la terapia farmacologica tradizionale è stata affiancata all'impiego della DFPP.

Nei trapianti di fegato di riceventi che avevano epatite C, per esempio, immediatamente dopo il trapianto e l'inizio della terapia immunosoppressiva si osserva un drammatico incremento della carica virale. In particolare, un'epatite fibrosa colestatica, caratterizzata da un'elevata replicazione virale, determina una rapida insufficienza epatica che presenta una prognosi severa. Nel lavoro di Taniguchi et al., in quattro pazienti di questo tipo, fu eseguita una combinazione di terapia farmacologica con peg-interferone e ribavirina e 5 sessioni di DFPP (11). In tre pazienti che eseguirono tale schema terapeutico come profilassi dalla ricorrenza dell'infezione da *virus* C, a distanza di un anno dal trattamento, non fu evidenziata alcuna recidiva. Il quarto soggetto, che eseguì, invece, lo schema integrato farmaci più DFPP per trattare una severa fibrosi colestatica del *graft*, migliorò drammaticamente dopo tale procedura.

Le esperienze in soggetti non trapiantati si riferiscono a pazienti portatori del genotipo 1b dell'HCV, in presenza di un'elevata carica virale.

Nello studio di Yamashita et al. (12), in 9 pazienti, la DFPP è stata eseguita tre volte, nei giorni 1, 2 e 4, e la somministrazione di interferone e ribavirina è iniziata immediatamente dopo la DFPP del 1° giorno. Come dimostrato nel lavoro, il *virus* era scomparso dal plasma di tutti i pazienti dopo che lo stesso plasma era passato dal filtro secondario del circuito, a dimostrazione dell'efficacia della metodica nel rimuovere effet-

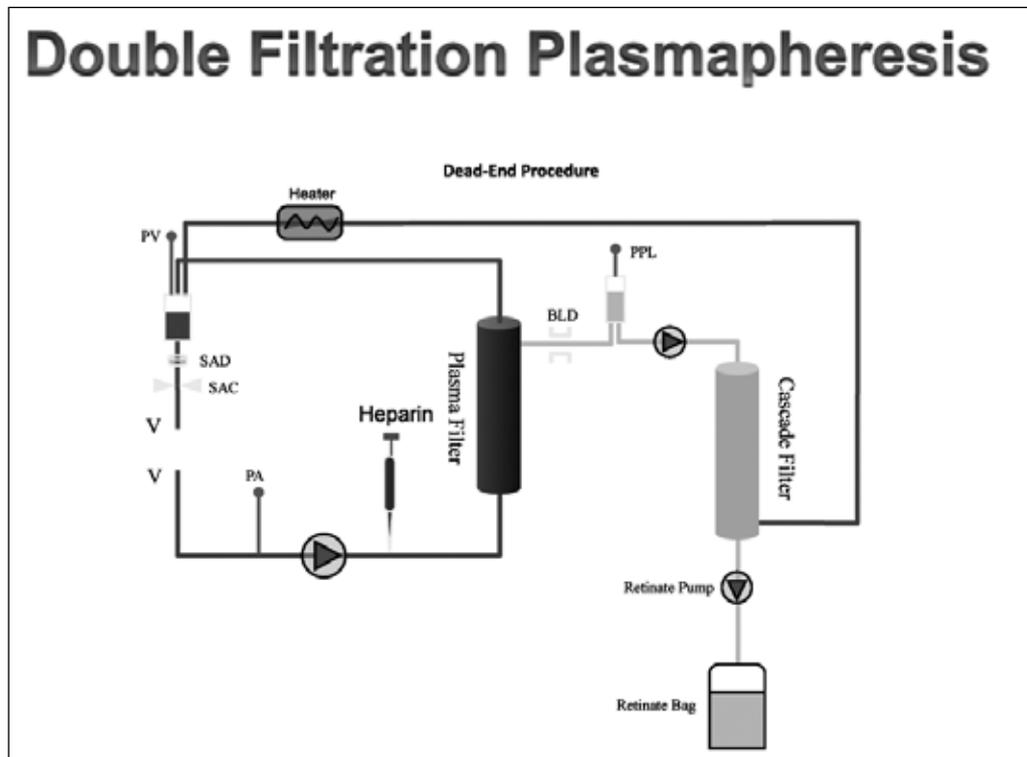


Fig. 1 - Schema della filtrazione a cascata o "Double Filtration Plasmapheresis".

tivamente il *virus*. In più, dopo due settimane, la carica virale tendeva a ridursi maggiormente nel gruppo DFPP rispetto a quello controllo, consentendo una risposta virologica precoce (EVR) maggiore nel gruppo trattato con DFPP rispetto al controllo.

Un articolo più recente ha esaminando 193 pazienti con epatite cronica C, alta carica virale e genotipo 1b, ossia pazienti difficili (13). A seconda del rispettivo metodo di trattamento, i pazienti sono stati divisi in sei gruppi. I gruppi a cui era stata somministrata una terapia integrata, farmacologica e aferetica, hanno sempre evidenziato una maggiore riduzione della viremia rispetto ai gruppi in solo trattamento con farmaci. Ma è stata soprattutto la risposta virologica sostenuta (SVR) a realizzarsi nel 70% dei pazienti sottoposti ad aferesi, rispetto a una percentuale del 50% manifestatasi in coloro che assumevano solo farmaci.

ESPERIENZA PERSONALE

Gli studi condotti finora hanno peccato, comunque, per uno scarso numero di sedute aferetiche praticate e per la scarsa omogeneità dei gruppi considerati, soprattutto in termini di tipo di trattamento farmacologico.

In uno studio pilota da noi condotto, abbiamo cercato di comprendere meglio il ruolo svolto dalla procedura aferetica nella *clearance* del *virus* attraverso un ap-

proccio integrato che, a una prima fase di sola terapia aferetica con DFPP facesse seguire una seconda fase in cui all'aferesi si associasse un trattamento *standard* con interferone peghilato e ribavirina. In sostanza, i pazienti sono stati sottoposti a 12 sessioni di DFPP, tre per settimana, per un periodo complessivo di 1 mese. Dopo la prima settimana di aferesi, è stata aggiunta la terapia farmacologica a base di interferone peghilato e ribavirina ed è stata prolungata per un anno. Sono stati studiati 10 pazienti, affetti da epatopatia HCV istologicamente diagnosticata, di genotipo 1b, già trattati con terapia *standard* (interferone peghilato e ribavirina) e *non-responder* e confrontati con un gruppo controllo di pazienti con le stesse caratteristiche. L'HCV RNA viremia è stata valutata prima di ciascuna seduta aferetica e immediatamente dopo e la carica virale è stata analizzata anche nel filtrato. Abbiamo potuto osservare un'importante riduzione della viremia alla fine di ciascuna sessione, con un valore che risaleva, tuttavia, all'inizio della procedura successiva.

Come si osserva nella Figura 2, i valori medi di viremia, in riduzione già con la sola DFPP, tendono a ridursi più significativamente quando viene associata la terapia interferonica, a sottolineare la potente azione sinergica tra le due strategie. Infatti, il valore medio della viremia passa da 2176275 IU/mL prima dell'inizio dell'aferesi a 1486726 IU/mL all'inizio della quarta seduta, prima di cominciare la tera-

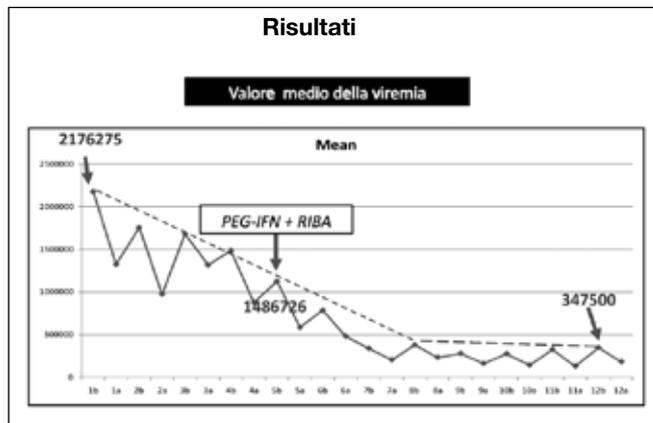


Fig. 2 - Riduzione media della viremia in 10 pazienti HCV positivi sottoposti a terapia integrata farmacologica (interferone peghilato e ribavirina) e aferetica (DFPP = 12 sedute). Sull'ascisse è riportato il numero di seduta, con l'indicazione b = before apheresis e a = after apheresis.

pia farmacologica, per scendere a 347500 IU/mL alla fine del primo mese. Pur risalendo nel periodo inter-aferetico, la viremia del pre-aferesi tende ad abbassarsi progressivamente nel corso del periodo di trattamento rispetto ai valori delle sedute precedenti, fino alla settima seduta. Dalla settima seduta di aferesi fino all'ultima, però, la cinetica dell'HCV rimane sostanzialmente stabile, mostrando un abbassamento dei livelli nel post-aferesi e una risalita fino al raggiungimento degli stessi livelli del pre-aferesi della seduta precedente. Sembra, pertanto, che, all'inizio del trattamento, si riesca con la sola aferesi ad abbassare decisamente la viremia, senza però negativizzarla del tutto. Dalla quarta seduta, l'aggiunta della terapia farmacologica incrementa questo abbassamento della viremia, non per un aumento dell'eliminazione della particella virale, in quanto le percentuali di rimozione dell'HCV sono sostanzialmente le stesse nel corso dell'intero periodo di trattamento, ma per un effetto sulla produzione virale della terapia farmacologica. Accade, però, che, a partire dalla settima seduta, questo effetto combinato della sottrazione meccanica indotta dalla DFPP e dell'inibizione della produzione favorita dai farmaci raggiunga uno *steady state*, non mostrando differenze significative tra i valori del pre- e del post-aferesi delle ultime cinque sedute.

Sappiamo che tra i fattori predittivi di risposta all'esito definitivo della terapia, la EVR riveste un ruolo importante. La EVR significa un *virus* irrintracciabile nel plasma o ridotto di più di 2 log dopo 12 settimane di terapia. Ebbene, dei 10 pazienti trattati, un paziente ha sospeso la somministrazione

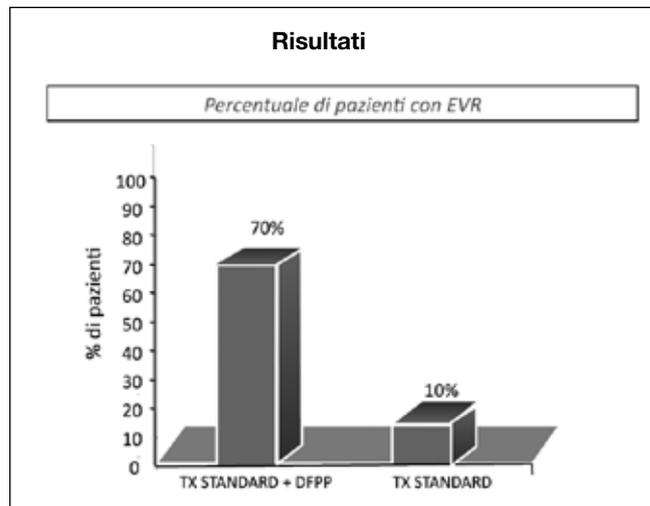


Fig. 3 - Percentuale di pazienti che hanno acquisito una risposta virologica precoce (EVR), a seguito del trattamento combinato farmaci con DFPP.

di farmaci al 3° mese, non avendo ottenuto alcuna risposta, mentre il 70% del totale ha ottenuto una EVR, con una differenza evidente rispetto al gruppo controllo, in cui solo il 10% aveva acquisito la EVR (Fig. 3). Purtroppo, però, il conseguimento della SVR è stato deludente, realizzandosi solo in 1 paziente nel gruppo DFPP rispetto a nessuno del gruppo controllo (10% vs 0%).

In conclusione, possono essere sottolineati alcuni punti fermi. È inequivocabile che la DFPP rimuove l'HCV dal circolo. Sembra, però, che questo non basti a ottenere una SVR, ossia quella che viene considerata un'effettiva guarigione dal *virus*. È possibile ipotizzare, comunque, che l'efficacia della terapia combinata osservata nel primo mese di trattamento debba essere riprodotta nei mesi successivi, eseguendo ulteriori sedute di DFPP, con una cadenza e un numero complessivi ancora da determinare. Dobbiamo ricordarci, infatti, del fatto che l'aferesi è una terapia sintomatica, che sottrae il tossico fino a quando si pratica, ed è probabile che il *virus* debba essere rimosso per un periodo superiore al mese per ottenere una risposta definitiva.

CONCLUSIONI

Nonostante i progressi fatti nel trattamento dell'epatite da *virus* C, una considerevole percentuale di soggetti rimane ancora portatrice del *virus*. Una nuova possibilità terapeutica sembra offerta da procedure di aferesi terapeutica che, rimuovendo le particelle virali

direttamente dal circolo, contribuiscono a potenziare l'effetto dell'approccio farmacologico tradizionale. Sebbene siano ancora da definire con certezza il numero e i cicli di procedure aferetiche da praticare, tale opzione merita di essere tenuta in considerazione, in particolare nei soggetti affetti da genotipo 1 del virus e con elevata carica virale.

RIASSUNTO

Nel 40% dei pazienti con epatite cronica C la terapia standard non eradica il virus. Dato che la risposta al trattamento farmacologico (TF) è condizionata dalla carica virale iniziale, una riduzione di quest'ultima attraverso rimozione aferetica del virus C ha un suo razionale.

Scopo del lavoro è stato trattare con filtrazione a cascata (FAC) pazienti non responder affetti da epatite cronica C (pts) prima di sottoporli al TF.

10 pts sono stati sottoposti a 12 sedute di FAC, 3 per settimana (volume di plasma trattato/seduta: 3000 mL). Dopo la prima settimana è stata associata terapia con PEG-IFN (1,5 µg/Kg/settimana) più Ribavirina (1200 mg/die). È stata determinata la viremia prima e dopo ogni

seduta di FAC, al 1°, 3° e 6° mese. Il valore medio pre-afesi della viremia è sceso da 2176275±3109997 U/mL della prima a 1486726±2091975 U/mL della quarta seduta (p<0.001), per giungere a 347500±637428 U/mL prima dell'ultima afesi (p<0.001). La riduzione percentuale media della viremia è passata da un minimo del 29,5% ad un massimo del 42%. I pts hanno ottenuto una early virological response del 70% rispetto al 10% di un gruppo controllo, costituito da 10 pazienti di pari età e distribuzione del sesso. Sfortunatamente, non siamo riusciti a confermare lo stesso successo in termini di risposta virologica sostenuta (SVR: 10% nel gruppo aferetico vs 0% nel gruppo controllo).

La FAC è risultata efficace nella rimozione del virus HCV. Comunque, la riduzione della carica virale prodotta dall'afesi in termini di EVR non è stata confermata quando abbiamo considerato la SVR.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

BIBLIOGRAFIA

1. Alberti A, Benvegnù L. Management of hepatitis C. *J Hepatol* 2003; 38 (Suppl. 1): S104-18.
2. Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 975-82.
3. Manns MP, McHutchinson JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001; 358: 958-65.
4. Zeuzem S, Feinman SV, Rasenak J, et al. Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 2000; 343: 1666-72.
5. Hayashi N, Takehara T. Antiviral therapy for chronic hepatitis C: past, present, and future. *J Gastroenterol* 2006; 41: 17-27.
6. Ballesteros AL, Fuster D, Planas R, et al. Role of viral kinetics under HCV therapy in HIV-HCV coinfecting patients. *J Antimicrob Chemother* 2005; 55: 824-7.
7. Manzin A, Candela M, Solfrosi L, et al. Dynamics of hepatitis C viremia after plasma Exchange. *J Hepatol* 1999; 31: 389-93.
8. Ramratnam B, Bonhoeffer S, Binley J, et al. Rapid production and clearance of HIV-1 and hepatitis C virus particles by large volume plasma apheresis. *Lancet* 1999; 354: 1782-5.
9. Schettler V, Monazahian M, Wieland R, et al. Effect of heparin-induced extracorporeal low-density lipoprotein precipitation (HELP) apheresis on hepatitis C plasma virus load. *Ther Apher* 2001; 5: 384-6.
10. Kaito M, Watanabe S, Tsukijama K, et al. Hepatitis C virus particle detected by immunoelectron microscopic study. *J Gen Virol* 1994; 75: 1755-60.
11. Taniguchi M, Furukawa H, Shimamura T, et al. Impact of double filtration plasmapheresis in combination with interferon and ribavirin in living donor liver transplant recipients with hepatitis C. *Transplantation* 2008; 81: 1747-9.
12. Yamashita T, Arai K, Sakai A, et al. Virological effects and safety of combined double filtration plasmapheresis (DFPP) and interferon therapy in patients with chronic hepatitis C: a preliminary study. *Hepatol Res* 2006; 36: 167-75.
13. Fujiwara K, Kaneko S, Kakumu S, et al. Double filtration plasmapheresis and interferon combination therapy for chronic hepatitis C patients with genotype 1 and high viral load. *Hepatol Res* 2007; 37: 701-10.