

COMPARTIMENTALIZZAZIONE DI HCV IN TERMINI DI VIRAL LOAD E DI VARIABILITA' GENETICA TRA TESSUTO EPATICO (NON TUMORALE E TUMORALE) E SANGUE PERIFERICO

F.P. Antonucci¹, M.C. Sorbo¹, L. Carioti¹, V. Cento¹, M.C. Bellocchi¹, M. Ciancio Manuelli³, I. Lenci², D. Sforza³, D. Di Carlo¹, T.M. Manzia³, M. Milana², M. Angelico², G. Tisone³, C.F. Perno¹, F. Ceccherini-Silberstein¹

¹Dipartimento di Medicina Sperimentale e Chirurgia, Università di Roma "Tor Vergata", Roma

²Epatologia, Fondazione Policlinico Tor Vergata, Università di Roma "Tor Vergata", Roma

³UOC Chirurgia dei Trapianti, Fondazione Policlinico Tor Vergata, Università di Roma "Tor Vergata", Roma

INTRODUZIONE

Durante il follow-up post trapianto epatico, la recidiva del virus dell'Epatite C (HCV) si osserva nel 95% dei pazienti (pz.). E' stato sviluppato un metodo rapido per quantificare l'HCV-RNA nel tessuto, tramite l'utilizzo del saggio Abbott RealTime HCV. Inoltre, abbiamo esaminato sia la variabilità genetica di HCV che la prevalenza di mutazioni associate a resistenza (RAVs) in 3 compartimenti: plasma (PL), tessuto epatico tumorale (TT) e non-tumorale (NT).

METODI

Sono stati analizzati 18 pz. HCV-infetti (4 GT1a, 8 GT1b, 5 GT3a, 1 GT2), 16 sottoposti a trapianto ortotopico di fegato (OLT) e 2 a resezione epatica (RE). Prima dell'OLT, 4/18 pz. sono stati trattati con antivirali ad azione diretta (DAA), di cui: 3 pz. ancora in terapia durante l'OLT e 1 guarito.

L'HCV-RNA è stato quantificato in 3-4 distinte sezioni dello stesso campione epatico; ogni sezione (13 mg) è stata omogeneizzata con il TissueRuptor e successivamente processata tramite il saggio Abbott RealTime HCV. Sia il DNA che l'RNA totale sono stati estratti per la normalizzazione delle concentrazioni di HCV-RNA intra-epatiche in UI/μg di RNA totale e UI/106 cellule epatiche.

Per determinare la prevalenza delle RAVs, le regioni NS3/NS5A/NS5B di HCV nel PL, NT e TT sono state analizzate tramite il sequenziamento Sanger in 15/18 pz. e in 5/15 pz. tramite anche il pirosequenziamento Ultra-deep (UDPS).

RISULTATI

Nei pz. non trattati, la mediana (IQR) di HCV-RNA è risultata sempre più alta nel NT che nel TT: logUI/μgRNA=4.3 (3.1-4.9) in NT vs 4.0 (1.2-4.3) in TT (Mann-Whitney, p=0.193); e UI/106 cellule= 6.4 (5.6-7.1) in NT vs 5.4 (3.8-6.2) in TT (Mann-Whitney, p=0.209). Una correlazione significativa e positiva è stata trovata tra siero e NT nei pz. non trattati (Pearson: rho= 0.609, p=0.021). La stessa correlazione tra siero e NT è risultata più forte nei pz. cirrotici (N=9) (rho= 0.702, p=0.035).

Riguardo i pz. trattati, al momento dell'OLT, avevano tutti una viremia non rilevabile (TND); tuttavia, i 3 pz. che non avevano terminato il trattamento mostravano la presenza di HCV-RNA nel fegato; l'unico paziente con HCV-RNA TND anche nel fegato, era il paziente guarito.

Considerando le RAVs, è stata osservata la presenza di una compartimentalizzazione in 4/15 pz. tramite sequenziamento Sanger e/o UDPS.

Gli alberi filogenetici hanno mostrato una consistente compartimentalizzazione a livello intraepatico tra TT e NT in pz. non-cirrotici, mentre una minore compartimentalizzazione è stata osservata nei pz. cirrotici.

CONCLUSIONI

L'Abbott RealTime HCV è un saggio rapido e accurato per la quantificazione di HCV-RNA anche nel tessuto epatico. Tale saggio potrebbe essere di aiuto per valutare, nel fegato, la clearance virale in pz. sotto trattamento con i DAA, anche quando l'HCV-RNA è TND nel siero.

Complessivamente, è stata osservata una differente compartimentalizzazione di HCV tra NT e TT sia in termini quantitativi, che in termini di variabilità genetica e di RAVs.

Questi risultati, sebbene preliminari, supportano l'ipotesi di diversificazione di ceppi HCV nel fegato, spiegando i casi di fallimento anche nell'era dei nuovi DAA.