

Alma Mater Studiorum – Università di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA

in scienze medico chirurgiche gastroenterologiche e dei trapianti

Ciclo XXI

Settore scientifico disciplinare di afferenza: medicina e chirurgia

TITOLO TESI

RUOLO DELL'INFLIXIMAB NELLA TERAPIA DELLA COLITE
ULCEROSA MODERATO-SEVERA

Presentata da : Claudia Morselli

Coordinatore Dottorato

Prof. Massimo Campieri

Relatore

Prof. Massimo Campieri

Esame finale 2009

INDICE

Cap.1 LA COLITE ULCEROSA.....	p.3
1.1 Definizione.....	p.3
1.2 Epidemiologia.....	p.5
1.3 Quadro anatomico-patologico.....	p.7
1.4 Aspetto clinici.....	p.9
1.5 Aspetti diagnostici.....	p.12
Cap.2 ASPETTI FISIOPATOLOGICI DELLE MICI.....	p.21
2.1 Ipotesi eziopatogenetiche.....	p.21
2.2 Mediatori della flogosi.....	p.25
2.3 Il ruolo del TNF α	p.31
Cap.3 TERAPIA DELLA COLITE ULCEROSA.....	p.33
3.1 Terapia medica standard.....	p.33
3.2 Terapie biologiche.....	p.39
3.3 Infliximab.....	p.45
3.4 Terapia chirurgica.....	p.56

Cap.4 SCOPO DELLO STUDIO.....	p.59
Cap.5 MATERIALI E METODI.....	p.60
Cap.6 ANALISI STATISTICA E RISULTATI.....	p.67
Cap.7 DISCUSSIONE.....	p.72
BIBLIOGRAFIA.....	p.74

CAP.1 LA COLITE ULCEROSA

1.1 Definizione

La colite ulcerosa (CU) è una malattia infiammatoria cronica idiopatica dell'intestino caratterizzata da una diffusa ed intensa flogosi della mucosa rettocolica, con impegno solo marginale della sottomucosa, mentre gli strati muscolari, la sierosa ed i linfonodi non sono generalmente interessati. Si può presentare con un'attività e una sintomatologia da lievi a severi; circa il 90% dei pazienti presentano un grado di attività lieve-moderato.

La CU può essere localizzata al solo retto o può estendersi in senso prossimale, in modo simmetrico e continuo, e coinvolgere la parte sinistra del colon o l'intero colon, senza che vi siano aree intermedie di mucosa risparmiate dalla malattia. Circa due terzi dei pazienti hanno un coinvolgimento infiammatorio distale fino alla flessura splenica.

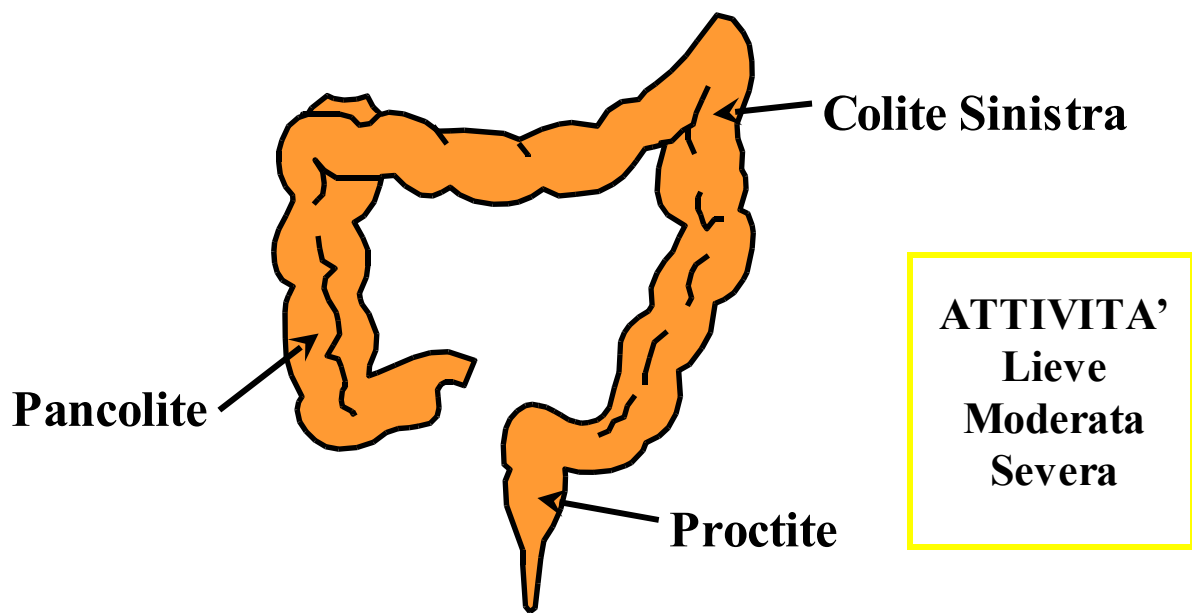
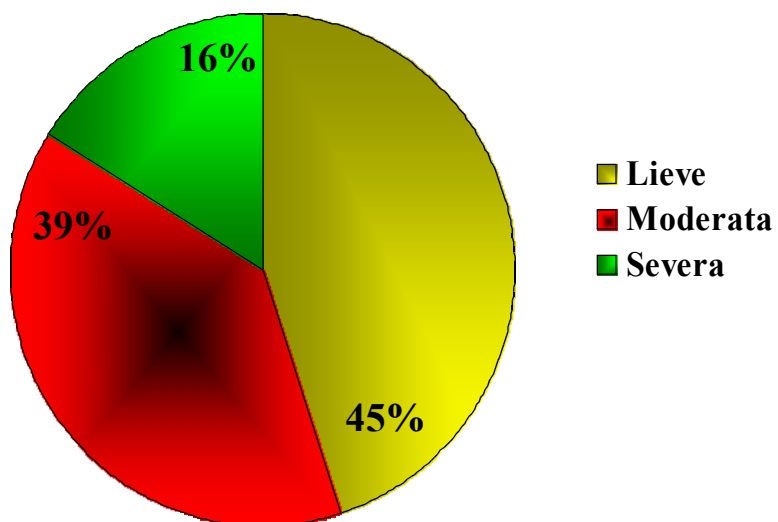


Figura 1.1

Attività lieve-moderata = 84 %



(Ranzi et al. 1996)

Figura 1.2

1.2 Epidemiologia

Le differenze nella distribuzione geografica e i cambiamenti dell'incidenza con lo scorrere del tempo nelle diverse aree, potrebbero sottendere possibili fattori eziologici.

Molti studi sono stati condotti sulla epidemiologia delle Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali (MICI). L'incidenza geografica delle MICI varia considerevolmente. La più alta incidenza di casi è riportata nell' Europa Nord-Occidentale e nel Nord America, mentre il più basso numero di casi si riscontra in Africa, Sud America e Asia, inclusa la Cina. Il fatto che queste patologie siano più diffuse nei paesi maggiormente sviluppati e industrializzati suggerisce che l'urbanizzazione sia da considerare un potenziale fattore di rischio. L'incidenza della CU varia enormemente, tra lo 0,5 e il 24,5 su 100.000 abitanti in tutto il mondo, mentre per la MC varia tra lo 0,1 e il 16 su 100.000 abitanti, con una prevalenza totale di MICI che raggiunge 396 su 100.000 abitanti.

Di recente è stato registrato un aumento dei valori di incidenza nell'Europa del Sud e nei paesi dell'Est, quasi confrontabile con i valori riportati nel Nord Europa e nel Nord America.

Il picco massimo di incidenza delle MICI è tra i 20 e i 40 anni, senza differenze tra maschi e femmine. Approssimativamente il 20% di tutti i pazienti con MICI sviluppano sintomi durante l'infanzia e tra questi, per il 5% circa si ha la diagnosi prima dei 10 anni di età. Circa il 25% dei bambini affetti ha una storia familiare positiva di MICI. Nonostante ciò non ci sono differenze note tra bambini sani e bambini con MICI per quanto riguarda sesso, allattamento al seno, intolleranze alimentari, precedenti patologie gastrointestinali o stress emozionali.

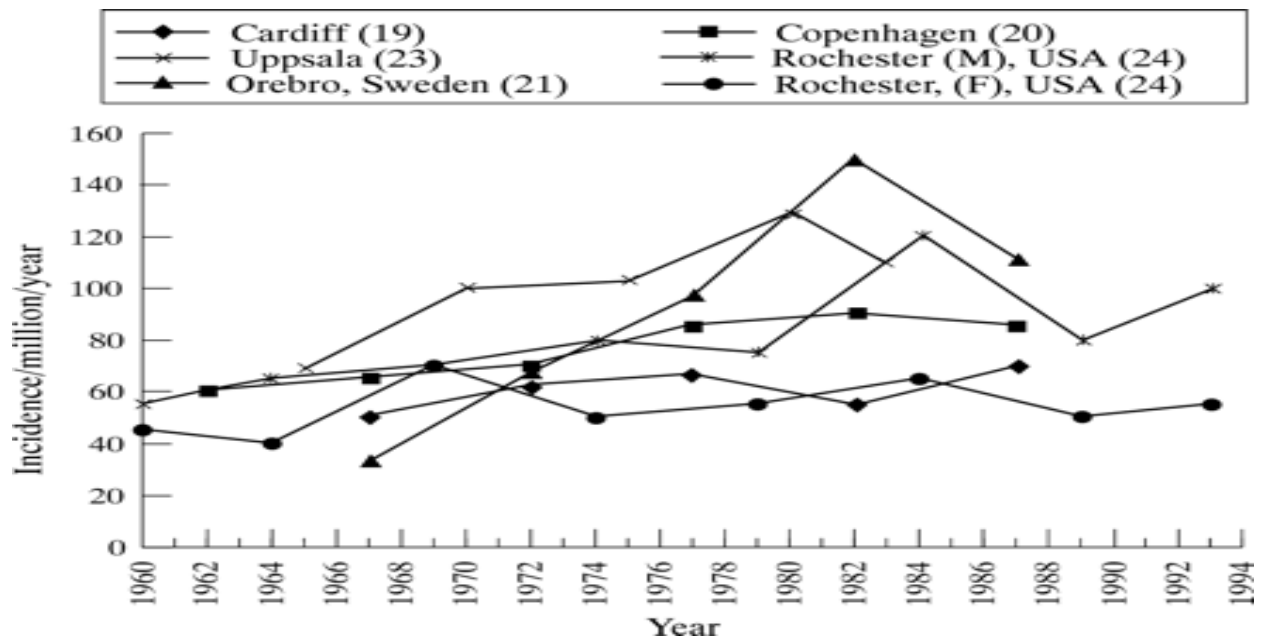


Figura 1.3 Tendenza dell'incidenza della CU

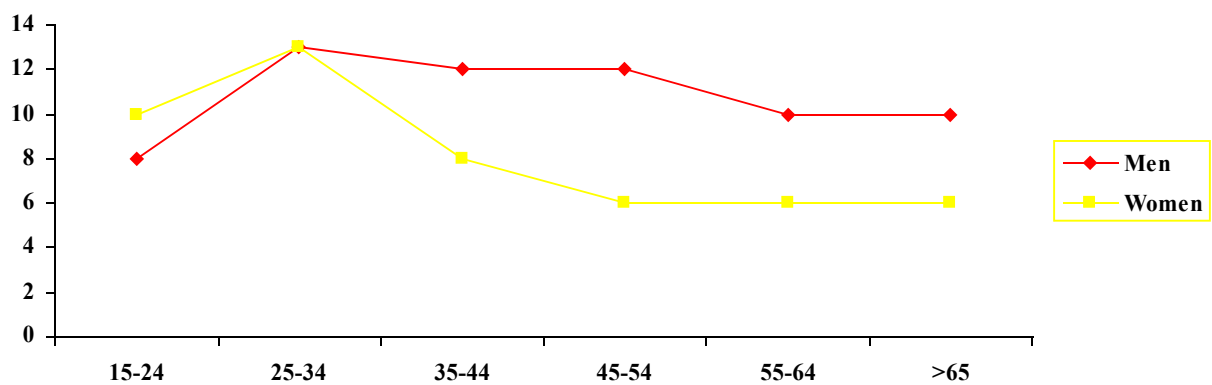


Figura 1.4 Incidenza specifica per età per 100.000 della CU

1.3 Quadro anatomo-patologico

L'aspetto caratteristico della CU consiste nell'estensione uniforme e continua, limitata alla mucosa, delle lesioni. Il retto è generalmente interessato (95% dei casi) e la progressione del processo infiammatorio, che avviene in senso prossimale, può essere di entità variabile.

Dal punto di vista microscopico, si osserva un'infiltrato di PMN neutrofilo a livello di mucosa e sottomucosa responsabile della progressiva distruzione epiteliale e della conseguente formazione di lesione ulcerosa. La presenza dei neutrofilo nelle cripte dà luogo alla formazione di caratteristici ascessi (per altro non peculiari della CU). La cronicizzazione del processo infiammatorio comporta la comparsa di fibrosi di modica entità a carico della sottomucosa; caratteristica è la formazione di pseudopolipi di natura infiammatoria conseguente a fenomeni rigenerativi della mucosa, circondati da aree disepitelizzate e ulcerate.

Nei casi di malattia di lunga durata, si possono osservare aspetti di displasia dell'epitelio, che assume il significato di lesione precancerosa. Il riscontro di displasia grave in corso di prelievo bioptico è correlato ad elevato rischio di carcinoma, che può essere localizzato a qualunque segmento del colon, e può condizionare l'eventuale ricorso alla colectomia.

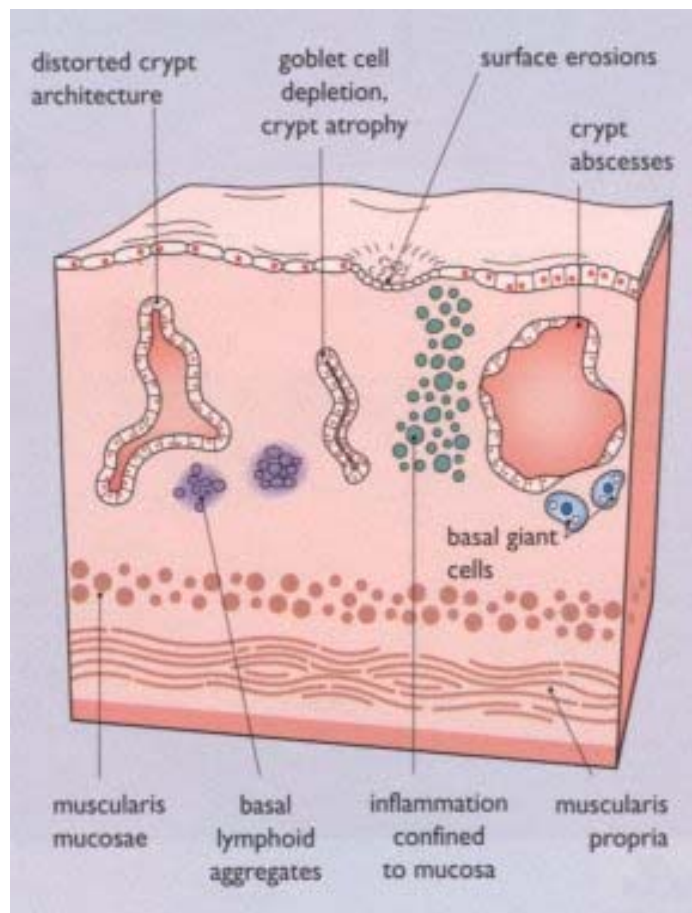
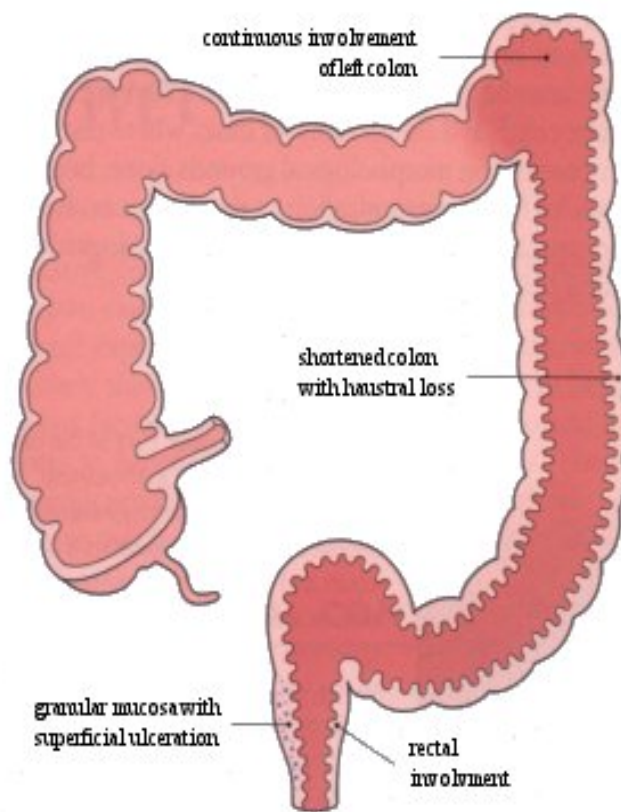


Figura 1.5

1.4 Aspetti clinici

La sintomatologia è dominata dalla modificazione dell' alvo in senso diarroico, con feci non formate miste a secrezioni muco-ematiche. Può essere presente dolore addominale. La presenza di diarrea mucosanguinolenta risulta utile per la diagnosi differenziale con la Sindrome dell'Intestino Irritabile.

Nelle proctiti, ovvero nelle forme limitate al solo retto, si ha la tendenza alla stipsi con tenesmo.

La localizzazione del dolore addominale dipende dall'estensione di malattia. Il dolore è presente in fossa iliaca sinistra quando il coinvolgimento infiammatorio è distale, mentre si presenta diffuso se si tratta di pancolite. I pazienti pediatrici sono quelli che presentano più frequentemente un coinvolgimento di tutto il colon, un'estensione di malattia in senso prossimale più precoce e un rischio più alto di colectomia se paragonati ai pazienti adulti. Nelle forme più severe possono associarsi sintomi sistemici quali calo ponderale, febbricola, anemizzazione e manifestazioni extraintestinali che sono per lo più espressione di meccanismi immunologici comuni alle manifestazioni intestinali, ma in gran parte ancora sconosciuti; gli apparati più spesso coinvolti sono: il sistema muscolo scheletrico, l'apparato tegumentario, oculare, fegato e vie bilio-pancreatiche, rene e vie urinarie, sistema epatopoietico (v.tabella 1.2).

Nell'età pediatrica le manifestazioni d'esordio prevalenti possono essere legate a ritardo di crescita, mentre nell'anziano la malattia tende ad assumere un andamento più indolente.

Il decorso clinico è caratterizzato da alternanza di periodi di remissione clinica e di periodi di acuzie e la complicanza più grave è rappresentata dal megacolon tossico (quadro di addome acuto legato all'abnorme dilatazione colica che impone la risoluzione chirurgica).

Tabella 1.1

PRESENTAZIONE CLINICA DELLA CU
Aumento del numero delle evacuazioni
Feci liquide o semiliquide
Presenza di sangue e muco frammiste alle feci
Tenesmo ed urgenza all'evacuazione
Dolore addominale
Febbre (attacchi severi)

Tabella 1.2

Manifestazioni extraintestinali	
CUTANEE (10-25%)	Eritema nodoso; Pioderma gangrenoso
ARTICOLARI (2-20%)	
OCULARI (3-11%)	Uveite acuta anteriore; Episclerite
SISTEMICHE	Amiloidosi
EPATICHE	Colangite sclerosante

1.5 Aspetti diagnostici

E' importante escludere la presenza di patogeni intestinali che possano mimare le MICI: *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Yersinia*, *Escherichia coli* O157:H7, *Clostridium difficile*, *Giardia lamblia*, *Histoplasma*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Cytomegalovirus* e *Entamoeba histolytica*. I pazienti con MICI possono averne anche una concomitante infezione all'esordio, ma i loro sintomi non si risolvono in seguito al trattamento specifico nei confronti del patogeno oppure ricorrono dopo giorni o settimane.

- **Test ematologici**

I test di screening per le MICI includono: emocromo completo, indici di infiammazione e un profilo metabolico che consideri anche gli enzimi epatici. Un elevato numero di globuli bianchi, anemia microcitica e trombocitosi sono suggestivi di MICI. Nelle fasi acute la velocità di eritrosedimentazione (VES), la proteina C reattiva (PCR), e le mucoproteine sono elevate nel 90% dei pazienti con MC, ma meno frequentemente nei pazienti con CU (eventualmente nei pazienti con malattia più severa). Possono esserci ipoalbuminemia e bassi livelli ematici di Ferro. Livelli elevati di enzimi epatici possono suggerire una valutazione più approfondita per escludere un'eventuale patologia epatica associata. I test sierologici più innovativi prevedono la ricerca di anticorpi anti citoplasma dei neutrofilari perinucleari (P-ANCA) e anticorpi anti- *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA). Questi tests sono usati per supportare la diagnosi di MICI o come indici per distinguere CU da MC, ma non sono usati di routine per la diagnosi di MICI. ASCA sono presenti nel 44-54% dei bambini con MC ma, quando presenti, sono altamente specifici (89-97%). P-ANCA sono presenti nel 66-83% dei bambini con CU e

nel 14-19% dei bambini con MC. La specificità del colorante perinucleare nella CU è confermata dalla sua scomparsa dopo trattamento con DNAasi dei neutrofilo.

- **Endoscopia**

L'esame endoscopico permette l'osservazione diretta della mucosa intestinale, con la possibilità di definire l'estensione del processo infiammatorio e di eseguire nel contempo, biopsie multiple. Il ruolo dell'endoscopia risulta, quindi, fondamentale sia nella diagnosi sia nel follow up del paziente.

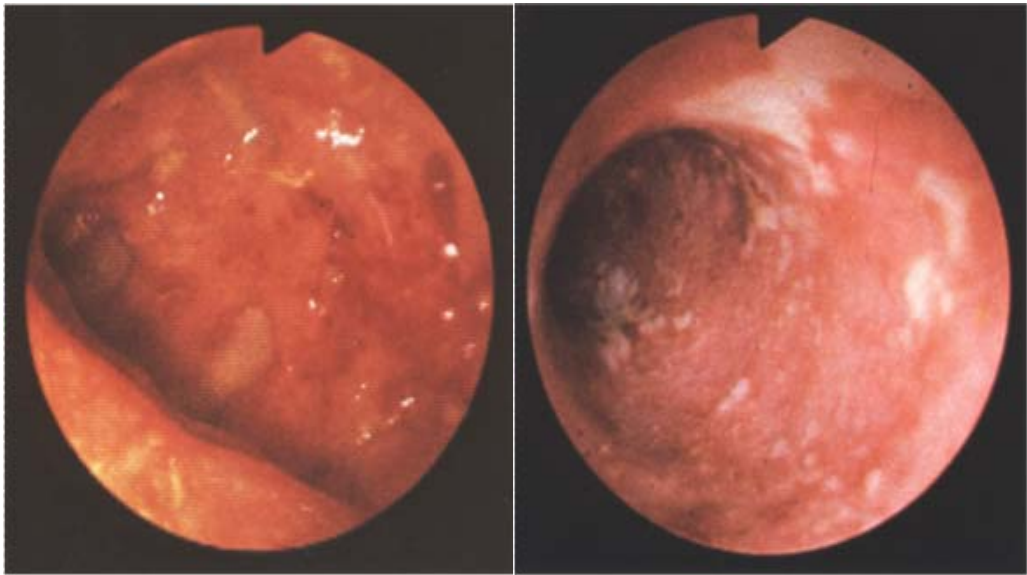
Se il retto appare indenne, aspetto questo frequentemente presente in caso di terapia topica precoce, una sicura diagnosi differenziale richiede l'esame istologico.

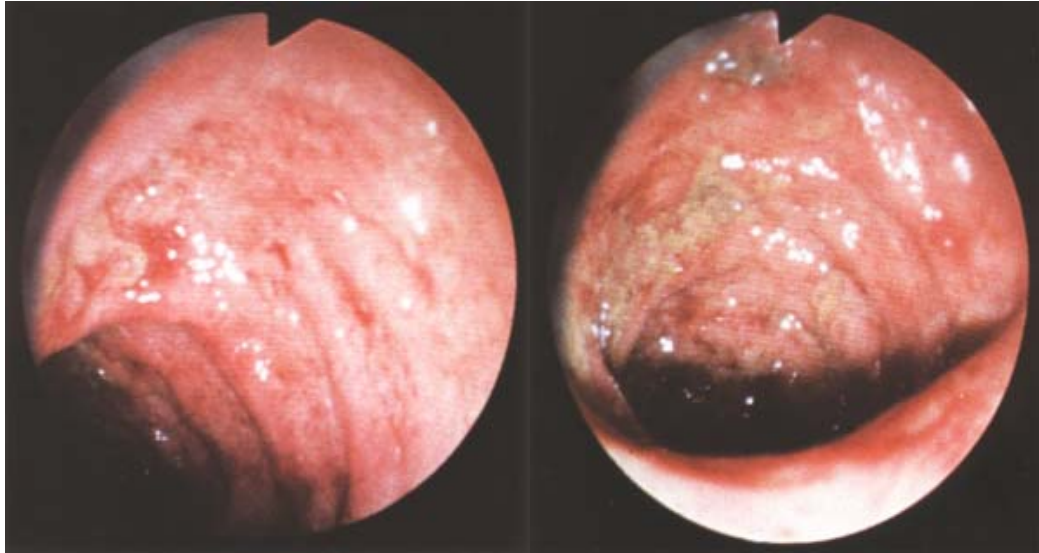
Ricordiamo la classificazione di Baron che distingue tre gradi di attività della CU in base a differenti quadri endoscopici:

- stadio 0: mucosa colica normale
- stadio 1: edema della mucosa e perdita del pattern vascolare
- stadio 2: edema della mucosa, perdita del pattern vascolare, erosioni e fragilità
- stadio 3: ulcerazioni ampie e confluenti a carta geografica, sanguinamento spontaneo.

Nella CU long standing l'endoscopia è la metodica di scelta per la evidenziazione precoce della presenza di displasia.

Figura 1.6





- **Ecografia**

A differenza della malattia di Crohn, nella colite ulcerosa il quadro ecografico è indubbiamente meno ricco di informazioni.

L'unico segno ecografico rilevabile con una certa frequenza (60-86%) è costituito dall'ispessimento delle pareti intestinali, causato dall'infiltrazione infiammatoria e dal conseguente edema, che rappresenta, comunque, un reperto aspecifico e, diversamente dalla MC, interessa solo gli strati più superficiali lasciando inalterati quelli profondi. Anche il completo o relativo mantenimento dell'ecostratificazione della parete del colon interessato e la perdita del profilo dell'austratura del colon sono caratteristiche più suggestive di CU, ma non sono sufficienti per differenziarla con accuratezza da altre malattie infiammatorie croniche dell'intestino.

L'ecografia può essere utile nella diagnosi differenziale tra CU e MC mettendo in evidenza: localizzazione della malattia, continuità dell'ispessimento parietale, assenza di complicanze del lume e del mesentere.

L'ecografia si è dimostrata di elevata utilità nelle fasi acute della malattia (nel definire estensione e grado di infiammazione) e nel follow up (nel valutare la risposta al trattamento).

- **Gestione del paziente in base al grado di attività di malattia**

Il monitoraggio dei pazienti con CU è più facile rispetto a quello nei pazienti con MC per in quanto la severità dei sintomi e l'attività di infiammazione sono strettamente correlati quando il coinvolgimento del grosso intestino è di importante entità.

La facile accessibilità della mucosa colica all'esame endoscopico ed istologico assicura, inoltre, ulteriori informazioni rispetto al grado d'infiammazione.

Attacchi severi:

Ancora oggi, la definizione di attacco severo di colite ulcerosa più utilizzato nella pratica clinica è quella descritta da Truelove e Witts circa 50 anni fa, che implica la presenza di 6 o più scariche di diarrea con muco e sangue e la presenza di almeno uno dei seguenti segni sistemici: febbre (TC >37,8°C), tachicardia (FC>90/min), anemia (Hb>10,5g/dl) e aumento degli indici di flogosi (VES>30mm/h).

I markers prognostici sono importanti come guida del clinico nelle sue decisioni terapeutiche. In effetti i pazienti con prognosi peggiore sin dall'inizio potrebbero essere trattati in modo più aggressivo ed eventualmente potrebbero essere riferiti al chirurgo più rapidamente.

Lennard-Jones e colleghi hanno riportato che i pazienti con più di 9 scariche e febbre > 38°C nelle prime 24 ore, hanno una chance di colectomia del 35%; se si aggiunge tachicardia con frequenza >100 il rischio aumenta al 55% e se i livelli di albumina sierica sono <3g/dl nei primi 4 giorni il rischio di colectomia sale al 75%. Altri importanti fattori prognostici negativi sono la presenza di isole mucose e di anse ileali distese all'Rx diretta dell'addome.

Più recentemente Travis e colleghi, in uno studio prospettico, hanno osservato l'85% di rischio di colectomia quando i pazienti presentano > 8 scariche ematiche al giorno, o >3 scariche ematiche e una proteina-C-reattiva > di 4,5 g/dl in terza giornata dall'inizio della terapia intensiva con steroidi.

Sorprendentemente, altri parametri identificati da Lennard-Jones, quali la conta delle piastrine, l'ammontare del gas nel piccolo intestino e la febbre non differenziavano invece chi avrebbe necessitato di colectomia e chi no.

Le scoperte di Travis possono essere particolarmente utili nell'indicare la possibilità di una terapia precoce con ciclosporina in pazienti altrimenti destinati alla colectomia.

La valutazione endoscopica sicuramente rappresenta un momento fondamentale nell'assessment iniziale di un paziente con colite severa. Vi sono in effetti molte evidenze che in presenza di lesioni endoscopiche severe vi è un maggior rischio di fallimento della terapia medica ed un maggior rischio di complicanze. Tuttavia va sottolineato che l'esecuzione di una colonscopia in presenza di un colon particolarmente danneggiato può essere pericolosa e va eseguita con cautela e che una colonscopia totale non è necessaria. Raccomandata è, quindi, una attenta rettosigmoidoscopia, senza preparazione e con una bassa insufflazione di aria per minimizzare i rischi di una dilatazione traumatica acuta o di una perforazione. La presenza di un quadro severo con profonde ulcerazioni e isole mucose è altamente predittivo di fallimento della terapia, anche se i criteri clinici non sussistono.

Caprilli e colleghi hanno trovato che 7 su 31 pazienti con CU in severa attività associata ad un alto contenuto di gas a livello gastrico e del piccolo intestino non rispondevano alla terapia medica rispetto a 0 su 38 pazienti con normali livelli di gas. Questi dati sono poi stati confermati da Chew et al. che ha dimostrato che il 30% dei pazienti che avevano subito un intervento chirurgico si presentavano con dilatazione del piccolo intestino rispetto al 14% dei pazienti che avevano risposto alla terapia.

In conclusione, come approccio iniziale in un paziente con CU severa è necessario eseguire: un esame colturale e parassitologico delle feci per escludere un'infezione (CMV, Clostridium difficile); una colonscopia distale con biopsie (utile anche per escludere l'infezione da CMV), un RX diretta

dell'addome per escludere la presenza di un megacolon tossico e per mettere in evidenza eventuali segni prognostici negativi; esami ematici completi.

E' fondamentale una stretta collaborazione con i chirurghi in modo da individuare precocemente la necessità di un intervento chirurgico. Indicazioni assolute all'intervento chirurgico sono il megacolon tossico, la perforazione, il sanguinamento massivo e il deterioramento rapido delle condizioni del paziente.

La CU in severa attività non è una patologia locale, ma una patologia sistemica. I pazienti devono essere valutati clinicamente più volte al giorno con attenzione; vanno somministrati liquidi per ripristinare e mantenere l'equilibrio idro-elettrolitico e sangue se necessario; i pazienti vanno trattati con alte dosi di steroidi ev; lo stato nutrizionale va ottimizzato ma il "bowel rest" non influenza l'outcome dell'attacco. Vanno evitati antispastici e antidiarroici.

Tab.1.3 Daily check list per CU a severa attività:
• Regolare misurazione di temperature corporea e frequenza cardiaca
• Registrazione del numero di scariche, della consistenza delle feci e della presenza di sangue
• Valutazione delle condizioni generali del paziente
• Emocromo, PCR, VES elettroliti e albumina
• Rx diretta addome
• Proctosigmoidoscopia (all'ingresso e dopo 5-7 giorni)

Attacchi lievi-moderati:

Le forme lievi-moderate rappresentano il 90% dei casi. E' importante l'esame endoscopico per definire l'estensione del processo infiammatorio ed in particolare per distinguere tra forme distali (sotto la flessura splenica) e forme subtotali o totali in quanto ne derivano notevoli implicazioni terapeutiche.

Tab.1.4 Scores nella CU				
Parametri	Powell-Tuck	Sutherland	Rachmilewitz	DAI
Frequenza dell'alvo	+	+	+	+
Sangue nelle feci	+	+	+	+
Condizioni generali	+	+		+
Dolore addominale	+		+	
Consistenza delle feci	+			
Nausea	+			
Calo ponderale	+			
Segni extraintestinali	+		+	
Febbre	+			
VES			+	
Albumina				
Emoglobina				
Sigmoidoscopia	+	+	+	+

CAP. 2 ASPETTI FISIOPATOLOGICI DELLE MICI

2.1 Ipotesi eziopatogenetiche

L'eziologia delle Malattie Infiammatorie Croniche Intestinali è tuttora sconosciuta e probabilmente multifattoriale; oltre a una probabile eterogeneità genetica contribuiscono alla patogenesi numerosi fattori ambientali.

Tuttavia, diverse teorie riscuotono consensi: infezione cronica, alterazione della barriera mucosa, alterata risposta del sistema immunitario locale ad antigeni normalmente presenti nel lume intestinale.

- ***Infezione cronica***

Secondo questa teoria alla base delle MICI vi sarebbe un'infezione intestinale cronica.

La presentazione clinica e l'aspetto istologico delle MICI, in effetti, hanno similitudini con alcune infezioni intestinali da organismi patogeni conosciuti. Per esempio, la MC in fase acuta può apparire come un'infezione da *Yersinia* o *M. Tuberculosis*. Infezioni da altri patogeni enterici quali *Shigella* o *Campylobacter* possono simulare fortemente la CU.

Nonostante la MC porti il nome del ricercatore che l'ha distinta in maniera convincente dalla tubercolosi intestinale nel 1932, l'idea che sostiene che alla base della patogenesi della MC ci sia una infezione micobatterica, persiste ancora oggi. In particolare, è stato preso in considerazione *M.paratuberculosis*, l'agente causale dell'enterite cronica granulomatosa nei ruminanti (malattia di Johne). *M.paratuberculosis* è stato ritrovato in molti pazienti con MC e alcune ricerche hanno riscontrato un innalzamento dei titoli anticorpali contro antigeni micobatterici in pazienti con MC anche se

poi, ulteriori studi clinici e immunoistochimici hanno fallito nel confermare un effettivo ruolo dei micobatteri nella MC. Negli ultimi anni un certo numero di studi utilizzando le tecniche di PCR ha suggerito nuovamente l'ipotesi micobatterica, individuando nel tessuto intestinale sequenze micobatteriche, ma la loro presenza non è risultata comunque specifica per MC. Sembra piuttosto che si tratti di un epifenomeno secondario all'invasione da parte di questo agente delle ulcere profonde della mucosa.

Un altro patogeno estesamente studiato è la *Listeria Monocytogenes*, ma anche in questo caso, i dati non sono conclusivi.

Di particolare interesse è invece l'ipotesi di Wakefield et al. che hanno invece indicato, alla base delle MICI, l'infezione persistente da virus del morbillo, particolarmente nei casi in cui l'esposizione avviene durante la vita uterina o nei primi mesi di vita. Questa ipotesi propone la MC come una vasculite cronica granulomatosa che si sviluppa in reazione a una persistente infezione da virus del morbillo, il quale presenta un alto tropismo per il tessuto endoteliale a livello della sottomucosa intestinale. Evidenze epidemiologiche, in effetti, suggeriscono una correlazione tra MC e infezione da morbillo precoce. In più, strutture Paramixovirus-like sono state visualizzate nell'endotelio vascolare di pazienti con MC tramite microscopio elettronico e antigeni del virus del morbillo sono stati riscontrati in aree di infiammazione granulomatosa.

In conclusione, a dispetto dei considerevoli sforzi comprensivi di sensibili studi basati sull'utilizzo della PCR per selezionare eventuali microbi presenti, nessuna infezione particolare è stata definitivamente associata alle MICI. Esiste comunque la possibilità che la causa sia un non ancora identificato microrganismo difficilmente individuabile con i metodi correnti.

- ***Alterazione della barriera mucosa***

L'aumento della permeabilità della mucosa intestinale permette a numerosi antigeni luminali, in particolare batterici, di raggiungere la sottomucosa e stimolare cronicamente il sistema immunitario locale.

Numerosi studi hanno dimostrato che nei pazienti con MC vi sia un'alterazione della funzione di barriera della mucosa. Tale alterazione era dimostrabile anche nei parenti di I° grado e/o veniva aggravata dall'assunzione dei FANS. Queste osservazioni sono rafforzate anche da modelli sperimentali nei quali il difetto delle tight junctions è determinato geneticamente. Questi animali sviluppano spontaneamente un quadro di MICI.

- ***Alterata risposta del sistema immunitario locale ad antigeni normalmente presenti nel lume intestinale***

Alla base delle MICI potrebbe esserci un'esagerata e prolungata risposta del sistema immune mucosale, probabilmente determinata da uno o più difetti genetici, ad uno stimolo normale con conseguente infiammazione cronica. Negli ultimi anni, dati sempre più numerosi suggeriscono l'implicazione della flora batterica intestinale nella patogenesi delle MICI.

A supporto di questa ipotesi vi sono numerose osservazioni:

- Nei pazienti con MICI l'infiammazione si localizza prevalentemente nell'ileo terminale e nel colon che sono anche le aree con le più alte concentrazioni di batteri.
- Vi è evidenza di una ridotta tolleranza immunologica nei confronti della propria flora batterica nei pazienti con MICI. Studi hanno mostrato la presenza di anticorpi contro batteri commensali e la

proliferazione dei linfociti quando messi in coltura con batteri della propria flora.

- La M. di Crohn risponde costantemente alla deviazione del flusso fecale con regressione dell'infiammazione a valle e immediata riattivazione un volta chiusa l'ileostomia di protezione.
- Vi è evidenza di aumento delle concentrazioni dei batteri potenzialmente patogeni (Bacterioides, E. Coli enteroadesivi ecc.) e di riduzione di batteri protettivi (Lattobacilli, Bifidobatteri) nella mucosa intestinale dei pazienti con MICI.
- La evidenza più importante è quella che deriva da modelli di colite sperimentali. In molti modelli knock-out, qualunque sia il difetto genetico sottostante, non si verifica infiammazione se non vi è la presenza di una flora normale.

Tutto ciò significa: **niente colite senza batteri!**

2.2 Mediatori della flogosi

Instauratosi il danno iniziale, il processo infiammatorio viene mantenuto dal continuo passaggio di antigeni luminali attraverso la mucosa intestinale sino al sistema mucosale di membrana.

L'alterata regolazione della risposta flogogena a tale stimolo, attraverso l'aumentata espressione di citochine pro-infiammatorie e la ridotta produzione di citochine immunoregolatorie, porta alla cronicizzazione del processo.

Un ruolo di primo piano è svolto dai mediatori della flogosi e, in questo ambito, le citochine sono sicuramente quelli più studiati.

IL-1 Rappresenta il prototipo della citochina di tipo pro-infiammatorio ed è risultata implicata nella patogenesi di un'ampia varietà di processi infiammatori.

Nei pazienti con IBD sono stati documentati elevati livelli di IL-1 sia sierici, prodotti dai monociti circolanti, sia mucosali prodotti dalle LPMCs. Valori sierici elevati sono stati documentati nei pazienti con MC; a livello tissutale, invece, l' IL-1 viene prodotta in quantità maggiore nella colite ulcerosa. In entrambe le condizioni, peraltro, è stata documentata una relazione tra livelli di IL-1 e attività della malattia.

L'IL-1 è responsabile sia di effetti locali (stimolazioni linfociti T e B, edema ed infiltrazione dei neutrofili) che di sintomi sistemici (febbre, stato ipercatabolico, produzione di proteine della fase acuta, riduzione dei livelli plasmatici di ferro e zinco).

Viene prodotta da una vasta coorte di cellule di tipo immunitario e non (endoteliali, fibroblasti, cellule neuronali, cheratinotici, cellule epiteliali, ma in maniera più rilevante dai macrofagi attivati presenti nella lamina propria),

in due tipi diversi, α e β , da geni diversi e con struttura aminoacidica diversa, ma con medesimo spettro di attività biologica.

Alla famiglia della IL-1 appartiene un'altra citochina, con medesimo sito di azione e funzioni completamente opposte, l' IL-1 receptor antagonist (IL-1ra); prodotta consensualmente all'IL-1, si lega in maniera antagonista agli stessi recettori di membrana, bloccandone l'azione.

L'azione regolatrice di questa citochina è stata evidenziata sia negli studi sugli animali da esperimento, che nell'uomo. In modelli di coliti sperimentali è stato dimostrato che la sintesi di questa proteina aumenta rapidamente dopo l'induzione della flogosi e si mantiene elevata nei giorni immediatamente successivi. E' stato documentato, inoltre, che la attività della infiammazione è fortemente condizionata dal trattamento con IL-1ra o dal blocco della sua azione. Questi dati sono stati confermati dai dosaggi eseguiti sia sul siero che nella mucosa nei pazienti con CU o MC. I livelli sierici di IL-1ra, sono di 2-10 volte più elevati durante la fase attiva e si riducono dopo terapia steroidea. Nei pazienti con MC è stato evidenziato, inoltre, un basso rapporto IL-1ra/IL-1 affatto caratteristico e non osservato in nessun'altra malattia infiammatoria. Il meccanismo biologico che porta al bilanciamento tra IL-1 e IL-1ra è ancora sconosciuto, ma evidenze recenti suggeriscono che la quantità di queste citochine prodotta da un individuo può essere geneticamente determinata.

IL-2 Molti studi ne hanno analizzato il ruolo nelle IBD con risultati, soprattutto negli studi in vivo, non sempre concordanti. Rilievi di Gurbindo sulla produzione di IL-2 da parte di LPMC in coltura ottenuti da pazienti con IBD durante fasi acute e croniche di infiammazione, hanno mostrato livelli basali e dopo stimolo normali nella fase acuta, e per contro un aumento spontaneo della sintesi nella fase cronica, lasciando intuire che in questa svolgono un ruolo rilevante i linfociti T. Diversi studi effettuati in vivo hanno

mostrato una maggiore produzione d'IL-2 e del suo mRNA nella MC rispetto alla colite ulcerosa.

Dati interessanti sono stati ottenuti anche studiando i livelli solubili del suo recettore, IL-2R (sIL-2R): Questi sono risultati più elevati nell'MC rispetto alla colite ulcerosa e correlati con il grado di attività infiammatoria. La differenza tra le due malattie si riduce nella fase di attività. Il ruolo dell'IL-2 nell'MC è sottolineato anche dall'osservazione di esacerbazioni della malattia impazienti trattati con alte dosi di IL-2 per neoplasie concorrenti.

Prodotta dai linfociti T attivati l'IL-2 stimola la proliferazione e differenziazione dei linfociti T e B ed incrementa la capacità citolitica delle Cellule NK e LAK (Lymphokine activated killers).

Svolge la sua azione tramite legame con un recettore di membrana che è costituito da due subunità α e β . Il recettore solubile per l' IL-2 non sembra essere il prodotto dell'evento trascrizionale del gene per il recettore, bensì il risultato del clivaggio proteolitico della parte α del complesso recettoriale di membrana. Questo recettore solubile ha una bassa sensibilità per l'IL-2 circolante ma, negli studi *in vitro*, ha dimostrato che, una volta legatosi a questa, ne blocca l'azione, riducendo quindi la risposta delle cellule T.

L'azione dell'IL-2 nei pazienti con MC va considerata in relazione agli effetti svolti da questa citochina sulle cellule T (azione di stimolo sul Th0 con maggiore differenziazione in Th1 rispetto a Th2) e permette di interpretare l'osservazione di una remissione della MC in un paziente che aveva sviluppato una CD4 penia HIV indotta e l'efficacia terapeutica del ciclosporina nella MC.

Anche in questo caso come già visto per la famiglia dell'IL-1 si prospetta una situazione di balance tra la popolazione Th1 e Th2. il prevalere dell'una sull'altra condiziona il divenire dello stato infiammatorio.

IL-4 e TGF- β L'IL-4 è una citochina regolatoria. Studi *in vitro* sui PMNCs e sui LMNCs hanno dimostrato che IL-4 inibisce in modo dose dipendente la produzione delle citochine pro-infiammatorie (IL-1, TNF) e la secrezione di anione superossido. Rispetto ai controlli sani i PMNCs ed i LMNCs dei pazienti con IBD dimostrano una ridotta capacità di risposta all'azione di IL-4. Nello stesso modo, nei monociti di soggetti normali, il rapporto IL-1ra / IL-1 viene incrementato dall'azione di IL-4, mentre nei soggetti con IBD questo rapporto persiste basso anche dopo il trattamento con IL-4. L'IL-4 viene prodotta soprattutto dalle cellule Th2 e dai macrofagi e svolge il suo ruolo regolatorio sia inibendo la differenziazione delle cellule Th0 verso il sottogruppo Th1, sia stimolando la produzione di IL-10.

IL-6 Molti studi hanno evidenziato livelli elevati di questa citochina nel siero e nella parete intestinale di pazienti affetti da IBD. Nei primi rilievi di Mahida e Gross, livelli sierici e tissutali più elevati sono stati riscontrati nella malattia di Crohn. In uno studio più recente condotto su colture cellulari di biopsie di mucosa colica, livelli elevati sono stati riscontrati anche nella CU, senza ulteriore incremento dopo stimolazione delle cellule T con anti-CD3. Queste osservazioni suggeriscono che i livelli di IL-6 vengono incrementati dalla attivazione delle cellule T e dei macrofagi e che nelle malattie infiammatorie esiste uno stato di pre-eccitazione basale relativamente alla sintesi di questa citochina prodotta sia dai LPMC sia dalle cellule epiteliali dell'intestino.

IL-8 Membro della famiglia delle chemochine, prodotta dai macrofagi attivati, dalle cellule mesenchimali e dalle cellule epiteliali, l'IL-8 è sicuramente il più potente fattore di stimolo della chemiotassi per i neutrofili e le cellule T. Elevati livelli mucosali di IL-8 sono stati riscontrati sia nella CU che nella MC. Solo nella prima l'aumento dei livelli di IL-8 è

accompagnato da un aumento dei livelli tissutali di mieloperossidasi, il maggior prodotto enzimatico dei neutrofili. Questo è in linea con il diverso pattern di infiltrato e con i livelli tissutali di IL-1 e TNF. Studi su colture cellulari hanno mostrato la capacità di anticorpi anti-IL-8 di bloccare il processo di aderenza e di migrazione dei neutrofili, prospettandone l'impiego nella terapia delle IBD.

IL-10 Viene prodotta dai linfociti TH2 e dai macrofagi attivati. Svolge un'azione di blocco sulla produzione di citochine pro-infiammatorie come la IL-1, IL-6, TNF e impedisce la attivazione dei macrofagi e delle cellule Th1. Rappresenta il prototipo della citochina regolatoria. Il suo ruolo è stato chiarito con gli studi sui topi knock-out per il gene che produce la IL-10. Questi topi, se cresciuti in condizioni normali, sviluppano un'enterocolite cronica mediata da Th1 e "condizionata" dalla presenza della flora microbica endoluminale; cresciuti in condizioni di germ-free non sviluppano colite. La tolleranza verso la flora microbica autologa viene nuovamente instaurata con il trattamento con IL-10 o con anticorpi anti-IL-12. Gli studi in vitro su PMNCs e LMNCs di pazienti con IBD e controlli sani hanno dimostrato che l'IL-10 inibisce la produzione di IL-1 e TNF in maniera dose dipendente, mentre aumenta la produzione di IL-1ra con conseguente aumento del rapporto IL-1ra/IL-1. IN vivo, al contrario, non si sono rilevate differenze nei livelli mucosali di IL-10 tra soggetti normali e pazienti con IBD. In questi ultimi, però, il trattamento topico con IL-10 causa una drammatica caduta dei livelli di citochine pro-infiammatorie.

IL dosaggio dell'mRNA mucosale risulta più basso nella CU rispetto alla MC. L'osservazione di un'alterazione diametralmente opposta a quella dell'IL-4 suggerisce una diversa immunopatogenesi nelle due malattie.

IL-12 L'IL-12, che è una citochina proinfiammatoria, svolge un importante ruolo regolatorio nella differenziazione delle cellule T e nella risposta Th1. È prodotta dalle cellule presentanti l'antigene ed è composta da una catena pesante (P40) e da una leggera (P35) unite a formare un eterodimero P70. Stimola la produzione di INF- γ da parte dei linfociti T che, a sua volta, promuove la differenziazione dei linfociti Th1 e la produzione di TNF α . La trascrizione di IL-12 ed i livelli presenti all'interno dei macrofagi su biopsie della mucosa intestinale di pazienti con MC risultano aumentati. Il trattamento dei mononucleati isolati dalla lamina propria con anticorpi anti IL-12 riduce la produzione di INF- γ ed attualmente è in corso lo sviluppo di una forma umanizzata di IL-12.

2.3 Il ruolo del Tumor Necrosis Factor α (TNF α)

Numerose evidenze cliniche e sperimentali hanno sottolineato il ruolo di primo piano del TNF α come mediatore pro-infiammatorio nella MC, ma è stato trovato anche in alte concentrazioni nel sangue, nel tessuto colico (soprattutto a livello subepiteliale, a differenza della MC in cui si ritrova più in profondità nella mucosa e nella sottomucosa) e nelle feci dei pazienti con CU.

La forma di secrezione, prodotta principalmente da monociti, macrofagi e linfociti T, circola come omotrimerico (51 kD) ed ha molteplici funzioni. Nelle MICI sono di particolare rilievo la capacità di reclutare cellule infiammatorie circolanti nelle sedi della flogosi, indurre edema, attivare la cascata coagulativa e promuovere la formazione del granuloma.

IL TNF α determina l'adesione tra i neutrofili e le cellule endoteliali attraverso diversi meccanismi: aumenta l'espressione delle selectine di membrana dell'endotelio, il numero di CD11b/CD18 sulla superficie dei neutrofili e la produzione di IL-8 da parte dell'endotelio e delle cellule epiteliali.

L'effetto pro-coagulante del TNF α dipende dall'attivazione della via estrinseca ed è mediato da altre citochine (IL-6), la cui secrezione è stimolata dal TNF α stesso. Al contrario il TNF α stimola direttamente la fibrolisi, anche se l'effetto complessivo è a favore della microtrombosi dei vasi. Infatti, sperimentalmente la neutralizzazione del TNF α con anticorpi monoclonali riduce lo stato di ipercoagulabilità ematica.

IL TNF α media la formazione del granuloma infiammatorio determinando una aumentata produzione del monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), una chemochina della famiglia delle chemochine CC, responsabile del reclutamento dei monociti circolanti nel sito di infiammazione.

L'aumentata produzione di citochine pro-infiammatorie è caratteristico delle MICI in fase di attività, sebbene molti studi diano risultati contrastanti sulla

loro reale produzione. Tali perplessità sono valide anche per gli studi che hanno valutato la produzione di TNF α . Numerosi studi evidenziano che il numero di cellule produttrici TNF α a livello della lamina propria è più elevato nei pazienti con MC rispetto ai controlli.

La distribuzione delle cellule positive per il TNF α nello spessore della mucosa è diverso nella MC rispetto alla CU.

Nella MC, le cellule positive per il TNF α sono presenti in tutto lo spessore della mucosa, sino alla lamina propria profonda. Nella CU, invece, solo i macrofagi sottoepiteliali producono TNF α .

Nonostante la MC si localizzi nell'intestino a tutto spessore, la produzione di TNF α è aumentata soprattutto a livello della mucosa e del lume intestinale. Infatti, in campioni di feci di bambini malati le concentrazioni di questa citochina sono alte, mentre quelle sieriche sono basse. Tuttavia, le concentrazioni sieriche di entrambi i recettori solubili del TNF α superano i limiti di normalità nella MC attiva.

CAP.3 TERAPIA DELLA COLITE ULCEROSA

3.1 Terapia medica standard

Gli obiettivi della terapia medica nella colite ulcerosa sono lo spegnimento del processo infiammatorio durante le fasi di attività e il mantenimento della remissione una volta ottenuta.

Per un corretto approccio terapeutico, è necessario valutare sia la severità che l'estensione della malattia.

Il trattamento di scelta nelle **coliti distali lievi-moderate** è l'acido 5 aminosalicilico (5-ASA) in somministrazione topica. L'acido aminosalicilico esiste anche in formulazione orale; questa molecola rappresenta un'evoluzione rispetto alla sulfasalazina, oramai utilizzata solo nei casi di intolleranza al 5-ASA, in quanto priva del vettore rappresentato dal sulfamidico (sulfapiridina) carico di numerosi effetti collaterali, e costituita esclusivamente dalla parte attiva (mesalazina). Gli aminosalicilati orali sono efficaci sia nella malattia distale che in quella estesa, ma in quella distale la percentuale di remissione ottenibile è significativamente inferiore rispetto a quella ottenuta con le preparazioni topiche. Una combinazione tra aminosalicilati orali e topici può essere maggiormente efficace, rispetto al singolo agente, nei pazienti refrattari.

Se il paziente non risponde dopo 2/4 settimane di terapia topica e/o orale con 5-ASA (o sulfasalazina), può essere considerato l'uso di nuovi steroidi, quali budesonide e beclometasone dipropionato (BDP), somministrati come clisteri. Essi hanno un'efficacia sovrapponibile a quella dei corticosteroidi sistemici, ma determinano una inibizione significativamente inferiore dell'asse ipotalamo-ipofisario-surrenale e dei livelli plasmatici di cortisolo. Il

beclometasone esiste anche in formulazione orale di 5 mg e studi clinici hanno dimostrato avere efficacia in particolare nei pazienti refrattari al 5-ASA orale.

In caso di persistente refrattarietà o nei casi in cui i sintomi siano particolarmente problematici sono indispensabili gli steroidi convenzionali. Solitamente viene utilizzato il Prednisone alla dose di 40-60 mg/die fino ad un sostanziale miglioramento dei sintomi a cui segue la graduale riduzione della dose dapprima di 5-10 mg/settimana fino al raggiungimento dei 20 mg/die poi di 2,5mg/settimana fino a sospensione.

Nei pazienti con attività cronica di malattia o che non possono essere svezzati dagli steroidi, è stato dimostrato che la Azatioprina alle dosi di 2-2,5 mg/Kg/die o la mercaptopurina alle dosi di 1-1,5 mg/kg/die possono essere efficaci nel mantenimento della remissione.

Nelle **forme severe di CU**, nel tentativo di evitare l'intervento chirurgico, deve essere tentato un trattamento medico intensivo. E' raccomandato iniziare la terapia con alte dosi di prednisone per via endovenosa (0,7-1 mg/kg/die-max.60 mg/die) e successivamente, raggiunto il miglioramento clinico, scalare il dosaggio gradualmente. Non vi è differenza né in termini di efficacia né di safety fra l'impiego dell'infusione continua o della somministrazione in boli ev degli steroidi come dimostrato da un recente studio in doppio-cieco italiano (*Bossa et al, Am j Gastroenterol 2006*).

Numerosi studi hanno dimostrato che la sospensione dell'alimentazione per os non modifica l'esito dell'attacco severo, a meno che non vi sia una complicanza in atto (impending megacolon). La dieta orale anzi, assicura la fisiologica nutrizione della mucosa.

Il ruolo degli antibiotici nel trattamento della CU in severa attività è ancora controverso; sono stati effettuati molti studi incoraggianti utilizzando tobramicina, rifaximina, ciprofloxacina, ma ancora insufficienti a

determinarne il ruolo effettivo. Tuttavia i protocolli per il trattamento della colite severa includono l'impiego degli antibiotici ad ampio spettro per i pazienti con segni di tossicità o peggioramento dei sintomi.

I pazienti che hanno ottenuto solo un parziale miglioramento con un regime corticosteroidico endovenoso intensivo sono candidati al trattamento con ciclosporina (CyA) endovena (2 mg/kg/die), il quale viene mantenuto per circa una settimana; nei pazienti che rispondono alla CyA endovena, si introduce successivamente la terapia di mantenimento orale alla dose di 4-8 mg/kg/die. Viene quindi introdotta l'Azatioprina orale alla dose di 2- 2,5 mg/kg/die e dopo 2-3 mesi si sospende la CyA orale. La ciclosporina necessita di un ripetuto monitoraggio dei suoi valori plasmatici per evitare effetti tossici (nausea, vomito, nefrotossicità, ipertensione, parestesie) e pone il paziente a rischio di infezioni opportunistiche soprattutto da *Pneumocystis carinii* e Cytomegalovirus; inoltre, è importante determinare, prima di intraprendere la terapia con ciclosporina, i livelli di colesterolo e magnesio plasmatici, in quanto bassi valori di questi potrebbero favorire l'insorgenza di effetti collaterali.

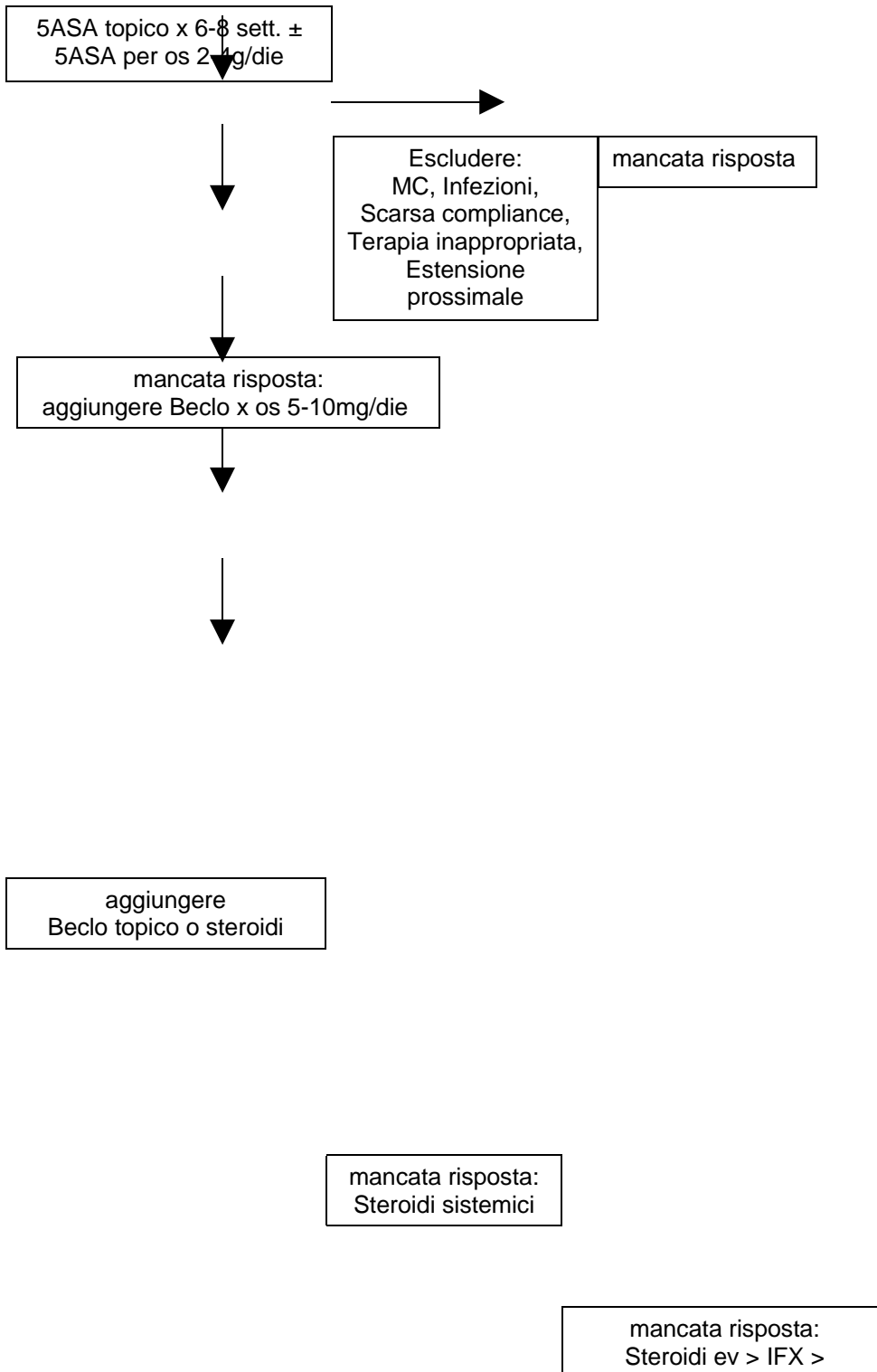
Terapia di mantenimento

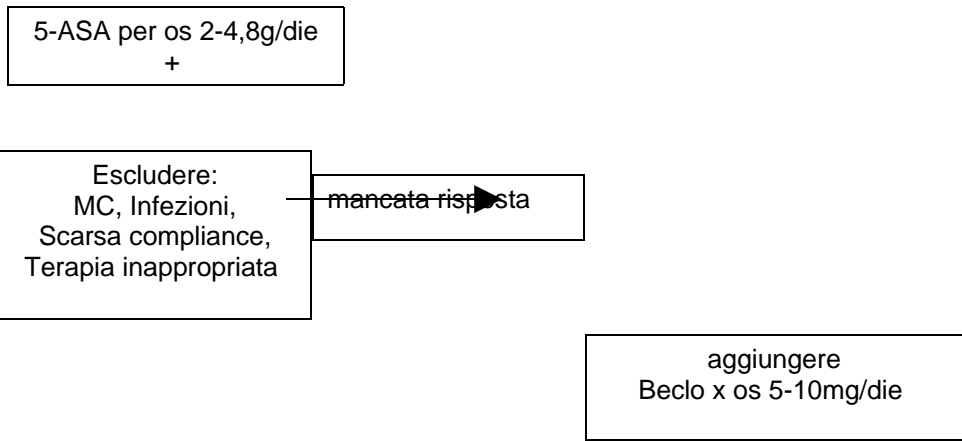
Gli aminosalicilati orali sono la terapia di scelta, in quanto modificano il decorso naturale di malattia, riducendo il numero di recidive (soprattutto severe) e il rischio di displasia. A dispetto dell'efficacia e della sicurezza degli aminosalicilati topici nelle forme di CU distale, l'80% dei pazienti nel lungo termine preferisce comunque il trattamento orale.

Nel caso di intolleranza o allergia alla 5-ASA/sulfasalazina o nei pazienti steroidi-dipendenti, l'unico trattamento in grado di mantenere la remissione della malattia è quello con gli immunosoppressori (azatioprina alla dose di 2-2,5 mg/kg, 6-mercaptopurina alla dose di 1-1,5 mg/kg). I principali effetti collaterali di questi farmaci sono la soppressione del midollo osseo, epatite e

pancreatite. Un attento monitoraggio della conta dei leucociti, degli enzimi epatici e pancreatici ogni dieci giorni per i primi 2 mesi e mensilmente durante il follow up dovrebbe evitare queste complicanze. Alla sospensione, in genere, del farmaco i valori ematici tornano alla normalità.

Di recente è stato proposto l'uso dei probiotici. I probiotici sono stati definiti da Fuller “microorganismi vivi che, se ingeriti in quantità sufficiente, esercitano effetti positivi sullo stato di salute dell'ospite, al di là del semplice effetto nutrizionale”. Studi recenti hanno infatti dimostrato per i probiotici un'efficacia paragonabile al trattamento tradizionale nel mantenere i pazienti in remissione, sottolineando inoltre, l'assenza di effetti collaterali significativi. Il razionale nell'impiego dei probiotici nella CU, si fonda sulla documentata correlazione tra processo infiammatorio e caratteristiche della microflora intestinale.





mancata risposta:
Steroidi ev > IFX >

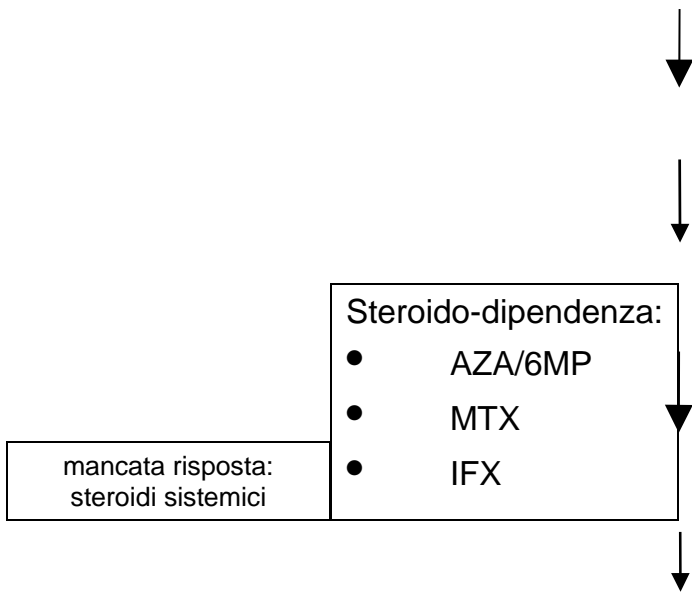
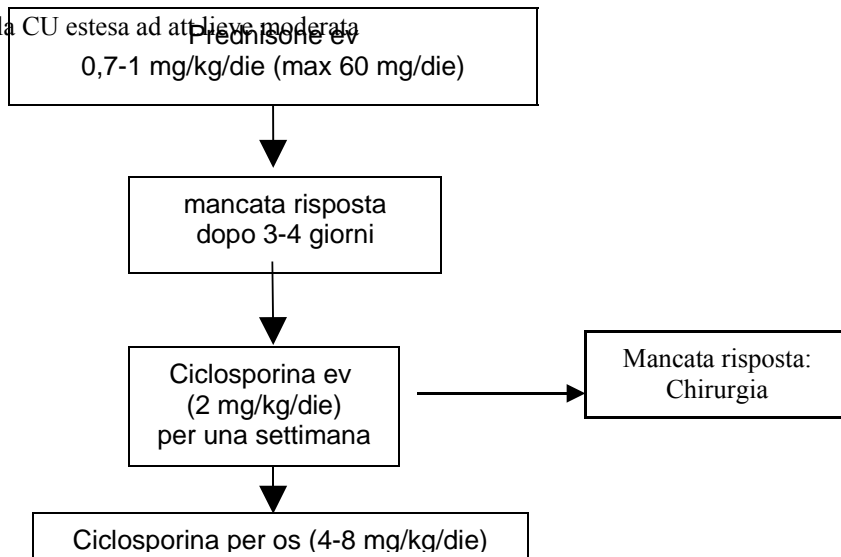


Figura 3.2 Terapia della CU estesa ad at Lieve/moderata



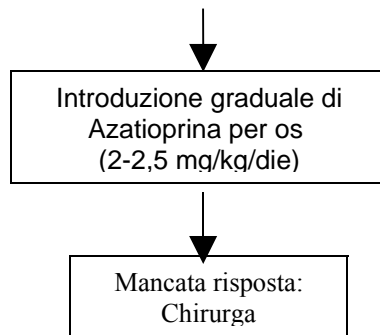


Figura 3.3

Mantenimento della remissione

CU distale CU estesa

proctosigmoidite/colite

proctite

5ASA x os 2-4g/die

frequenti recidive:
agg. 5ASA topico 3 vv/sett.

5ASA x os 2-4g/die

5ASA supposte
0,5-1g x 3vv/sett.

frequenti recidive:
aum. 5ASA supp. 0,5-1g/die
o
agg. 5ASA orale 2-4,8g/die

frequenti recidive:
AZA/6MP + 5ASA x os
Probiotici?

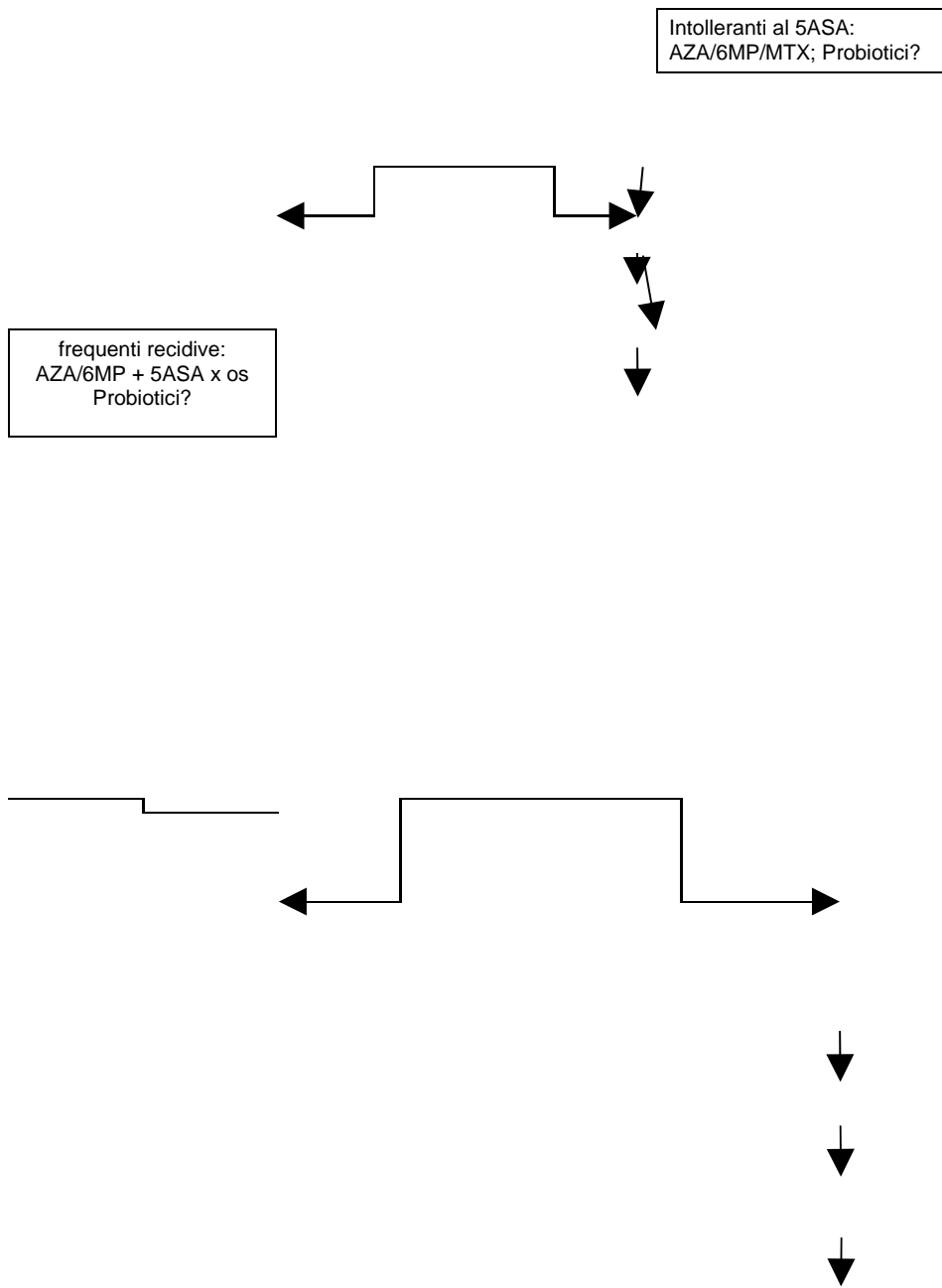


Figura 3.4

3.2 Terapie biologiche

I recenti progressi nell'individuazione dei meccanismi coinvolti nella patogenesi delle MICI hanno portato all'identificazione di nuovi possibili target per la terapia; allo stesso tempo, l'estrema specificità di questi nuovi approcci terapeutici, collettivamente definiti con il termine di “terapie biologiche”, potrebbero evidenziare la relativa importanza di ciascun target terapeutico nella patogenesi delle MICI.

Per alcuni di questi agenti biologici sono in corso trial clinici, molti altri sono in fase di sviluppo preclinico.

Nell'ambito della terapia biologica si possono individuare cinque categorie diverse:

- 1- Preparazioni biologiche native o isolate
- 2- Proteine o peptidi ricombinanti
- 3- Terapia basata sull'uso di anticorpi monoclonali
- 4- Terapia basata sull'impiego di acidi nucleici
- 5- Terapia genica

La prima categoria include proteine isolate dal sangue o dal siero (fattori della coagulazione, immunoglobuline) o i classici vaccini con microrganismi morti, attenuati o vivi.

La grande categoria dei peptidi o delle proteine ricombinanti include diverse classi di peptidi o proteine che condividono la caratteristica di essere prodotti in sistemi cellulari combinanti. Fra i più importanti per le MICI, vanno ricordate le citochine ricombinanti, gli antagonisti recettoriali delle citochine ed i recettori solubili per le citochine stesse.

Gli anticorpi monoclonali possono essere preparati per bloccare qualunque sostanza ad attività immunogenetica. Il loro utilizzo può essere limitato dallo sviluppo di immunità umorale contro queste proteine non native, in genere preparata in animali da esperimento (HAMA, human anti-mouse antibodies). La chimerizzazione, ovvero la parziale umanizzazione, degli anticorpi monoclonali ha determinato un miglioramento di questo problema, tuttavia anticorpi anti-anticorpi chimerici possono essere ugualmente prodotti, probabilmente diretti contro epitopi non nativi ancora presenti nella regione variabile.

Attualmente vengono anche prodotti anticorpi completamente umanizzati.

Gli agenti biologici basati sull'impiego di acidi nucleici include un piccolo, ma crescente, gruppo di composti. I più promettenti sono gli oligonucleotidi antisenso cioè oligonucleotidi sintetici di DNA a singola elica, con sequenza complementare all' mRNA target. Il legame dell'oligonucleotide antisenso all'mRNA target ne determina la degradazione e l'inibizione della produzione della proteina.

Infine, la terapia genica consiste nel trattamento delle cellule target con fattori o citochine oppure nell'inserzione o delezione di specifici geni in cellule isolate in coltura che, alla fine del trattamento, vengono reintrodotti nell'ospite.

L'eventuale applicazione ed efficacia di questi metodi nelle MICI dipenderà dall'identificazione dei geni target appropriati.

Le terapie biologiche possiedono un grande potenziale per il miglioramento della terapia delle MICI. Il loro ruolo nella terapia a lungo termine non è chiaro; inoltre il costo è elevato e la maggior parte di esse richiede una somministrazione per via parenterale. Per entrare a far parte

dell'armamentario terapeutico standard il loro uso deve essere giustificato dall'elevata efficacia e da un ottimo indice terapeutico. In ogni caso l'impiego di questi agenti biologici è in grado di determinare nuovi progressi nell'individuazione dei meccanismi patogenetici e dei target ottimali per la terapia medica delle MICI.

Targets della terapia biologica

Le attuali conoscenze della patogenesi delle MICI hanno portato all'individuazione di cinque possibili targets principali per la terapia biologica:

- 1- attivazione delle cellule T
- 2- citochine proinfiammatorie
- 3- cellule T CD4 positive e i sottogruppi Th1 e Th2
- 4- molecole d'adesione e reclutamento dei leucociti
- 5- mediatori non specifici del danno tissutale e della riparazione del danno stesso.

I tre target centrali (2,3,4) sono gli unici per cui esistano studi clinici controllati e saranno quindi oggetto di questo capitolo.

IL-1 e TNF α rappresentano i prototipi delle citochine proinfiammatorie e giocano un ruolo fondamentale nell'amplificazione dell'infiammazione nelle MICI. Infatti, queste citochine stimolano il rilascio di altri mediatori solubili dell'infiammazione e del danno tissutale, aumentano l'espressione delle molecole d'adesione e quindi il reclutamento di altre cellule infiammatorie della mucosa. Inoltre attivano altri macrofagi ed aumentano l'attività di presentazione dell'antigene.

L'antagonista recettoriale dell'IL-1 è prodotto endogenamente, in concentrazioni elevate in risposta a stimoli postinfiammatori, limitando gli effetti dell'IL-1.

Risultati incoraggianti ottenuti nei modelli sperimentali hanno suggerito il possibile utilizzo dell'antagonista recettoriale dell'IL-1 nelle MICI; sono stati condotti trial clinici, ma i risultati non sono stati pubblicati.

Le terapie biologiche dirette contro il TNF α consistono nell'impiego di anticorpi monoclonali o di recettori solubili.

I linfociti T CD4⁺ regolano aspetti critici della risposta immune specifica: sono classificati come Th1 o Th2 sulla base delle funzioni e delle capacità di produrre specifiche citochine. I Th1 regolano la risposta immune cellulo-mediata e secernono IL-2 e INF- γ . IN contrasto, i Th2 regolano la risposta immune umorale e secernono IL-4,5,6,10 e 13.

Questi due sottogruppi di cellule T si regolano vicendevolmente attraverso le citochine prodotte. Infatti, L'INF- γ inibisce la risposta Th2 mediata ed IL-4 e 10 inibiscono la risposta Th1 mediata.

Sono state messe a punto quattro strategie terapeutiche aventi come target le cell T CD4⁺:

- 1- Inibizione delle cellule CD4⁺ con anticorpi anti-CD4
- 2- Somministrazione di citochine ricombinanti immunoregolat-
rie, prevalentemente Th2, e L'IL-10 è già stata utilizzata in trial nell'uomo
- 3- Inibizione di citochine che dirigono la risposta verso le cellule Th1 (anti-
INF γ ed anti IL-12) utilizzate negli animali da esperimento
- 4- Blocco dei segnali in grado di stimolare la risposta Th1 (tecnica non ancora
utilizzata neanche in modelli sperimentali).

Il reclutamento dei leucociti nelle aree infiammate è un processo diretto da una serie di specifiche interazioni di molecole presenti nella superficie delle cellule. Inizia con una transitoria adesione dei leucociti alle cellule endoteliali mediate da una serie di selectine, presenti sulla superficie delle cellule endoteliali e dei leucociti, con un successivo “rolling” dei leucociti sulla superficie endoteliali. La presenza di specifiche chemochine, ovvero di citochine con attività chemotattica, secrete dalle cellule infiammatorie attivate induce l'espressione d'integrine sulla superficie leucocitaria con successivo

legame con specifiche molecole d'adesione espresse sulla superficie delle cellule endoteliali e successiva diapedesi .

Terapie biologiche sono state dirette verso le varie fasi del reclutamento leucocitario nei tessuti infiammati. La maggior parte sono state utilizzati in modelli sperimentali mentre i nucleotidi antisenso ICAM-1 sono stati utilizzati anche in trial clinici nella terapia delle MICI.

Altre strategie: *IL-10 ricombinante*

IL-11 ricombinante

Oligonucleotidi antisenso ICAM-1

3.3 Anti-TNF α

CDP571

CDP571 è un anticorpo “umanizzato” contro il TNF α , una chimera formata nel 95% da residui umani e nel 5% da residui murini. Il primo studio è stato condotto su 31 pazienti con Malattia di Crohn e ha dimostrato che CDP571 alla dose di 5 mg/kg provocava una grande riduzione del CDAI score alla 2a settimana in confronto al placebo. Dopo un importante studio pilota, CDP571 è stato testato in un studio controllato con placebo dose-finding. In questo studio, 169 pazienti randomizzati ricevevano una singola infusione endovena di CDP571 alla dose di 10 o 20 mg/kg o placebo. Alla seconda settimana, i pazienti trattati con CDP571 avevano mostrato una risposta clinica molto più elevata (45%) rispetto al placebo(27%). Ulteriori infusioni di CDP571/placebo erano somministrate ogni 8 settimane o ogni 12 settimane. I casi di remissione clinica alla 24a settimana nel gruppo-CDP571 non erano significativamente maggiori rispetto ai casi nel gruppo-placebo. In un successivo studio randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo e multicentrico, è stata valutata l'efficacia e la tollerabilità di CDP571 in 396 pazienti con MC. La percentuale dei pazienti che avevano assunto CDP571 che avevano raggiunto una risposta clinica era significativamente maggiore alla 4a e 8a settimana rispetto a quelli che avevano assunto placebo, ma alla 28a settimana la differenza non era statisticamente significativa.

In conclusione, quindi, CDP571 ha mostrato benefici a breve termine come terapia di induzione, ma non è risultato sufficiente a mantenere un effetto a lungo termine.

In un'analisi esplorativa di un sottogruppo di pazienti con elevati livelli di PCR si è dimostrata una significativa differenza tra il numero di pazienti che hanno risposto clinicamente alla 2a settimana e tra la 12a settimana e la 28a settimana, lasciando viva la possibilità che CDP571 fosse più efficace in un

selezionato gruppo di pazienti. CDP571 non ha dimostrato la capacità di svezzare i pazienti con MC corticodipendenti. CDP571 è stato ben tollerato anche nei pazienti che avevano mostrato reazione all'infusione o ipersensibilità di tipo ritardato verso l'infliximab. Da questi risultati si deduce che CDP571 è un farmaco sicuro, ma non efficace come l'infliximab nella MC.

CDP870

CDP870 è un frammento di Fab peghilato dell'anticorpo monoclonale anti-TNF α . In uno studio controllato con placebo dose finding, 292 pazienti randomizzati hanno ricevuto una dose sottocutanea di CDP870 (100,200 o 400 mg) o placebo alle settimane 0, 4 e 8. Il gruppo che ha ricevuto CDP870 400mg ha mostrato una risposta clinica maggiore rispetto agli altri gruppi in tutti i time points. Anche alla 10a settimana i casi di risposta clinica erano stati più alti tra i pazienti che avevano ricevuto 400 mg piuttosto che il placebo, ma alla 12a settimana non vi erano differenze significative. In un'analisi esplorativa su 119 pazienti con PCR aumentata, invece la risposta clinica tra coloro che avevano ricevuto 400mg di CDP870 e placebo era significativa anche alla 12a settimana. Questi studi hanno quindi dimostrato che CDP870 è più efficace tra i pazienti con PCR elevata. CDP870 sembra essere più sicuro e meno immunogenico rispetto all'infliximab; l'efficacia tuttavia è verosimilmente inferiore.

ETANERCEPT

L'Etanercept è il risultato della fusione tra il recettore solubile ricombinante umano p75 del TNF α e la porzione Fc di IgG1 umana.

L'iniezione subcutanea di Etanercept alla dose di 25 mg due volte alla settimana, che è la dose efficace nell'artrite reumatoide, è la dose sicura ma non efficace nei pazienti con MC da moderata a severa.

ONERCEPT

Onercept, un recettore p55 del TNF solubile, ricombinante completamente umano ha dimostrato la sua efficacia sulla MC in uno studio aperto su 12 pazienti. Un importante studio placebo-controlled e dose-finding è stato completato di recente ma i suoi risultati non sono ancora stati pubblicati.

ADALIMUMAB

Adalimumab è un anticorpo monoclonale IgG1 anti TNF completamente umanizzato. Questo anticorpo è efficace quanto l'infliximab per il trattamento dell'artrite reumatoide. Studi in vitro hanno rivelato che questo anticorpo è in grado di indurre apoptosi nei monociti come l'infliximab. Siccome l'adalimumab non contiene una sequenza peptidica murina, ci si aspetta che sia meno immunogenico e più tollerato rispetto all'infliximab. Due studi pilota non controllati con Adalimumab su pazienti affetti da MC che non avevano risposto o avevano sviluppato intolleranza all'infliximab hanno mostrato che l'adalimumab sottocutaneo è ben tollerato suggerendo il beneficio clinico dell'adalimumab. In uno studio multicentrico condotto su alcuni casi di MC attiva, la percentuale di remissione clinica di pazienti che avevano ricevuto adalimumab 160mg alla settimana 0 e 80 mg alla settimana 2, era significativamente maggiore rispetto a quella del gruppo placebo (36% vs 12%). Da questi risultati , si deduce che l'adalimumab possa essere efficace nel trattamento della MC e che potrebbe essere un'alternativa terapeutica per i pazienti che non rispondono o sono intolleranti all'infliximab.

INFLIXIMAB

Il TNF α è prodotto principalmente dai monociti, macrofagi e dalle cellule T attivate. L'anticorpo chimerico monoclonale A2 (cA2, INFLIXIMAB, Centocor) consiste nel 75% di IgG umane (nella regione costante) e per il 25% di IgG di origine murina (nella regione variabile). È formato da due catene leggere e due catene pesanti legate tra loro da ponti disolfuro. L'Infliximab è in grado di legarsi con alta affinità sia al TNF α libero sia a quello legato alle membrane, bloccandone la funzione. La concentrazione sierica di Infliximab è dose dipendente ed il volume di distribuzione è di circa 3 litri con un dosaggio di 5 mg/kg. Otto settimane dopo l'infusione, è possibile rinvenire tracce di Infliximab nel siero solo in caso di infusione ad alte dosi. Il tempo di dimezzamento è di circa 9-10 giorni.

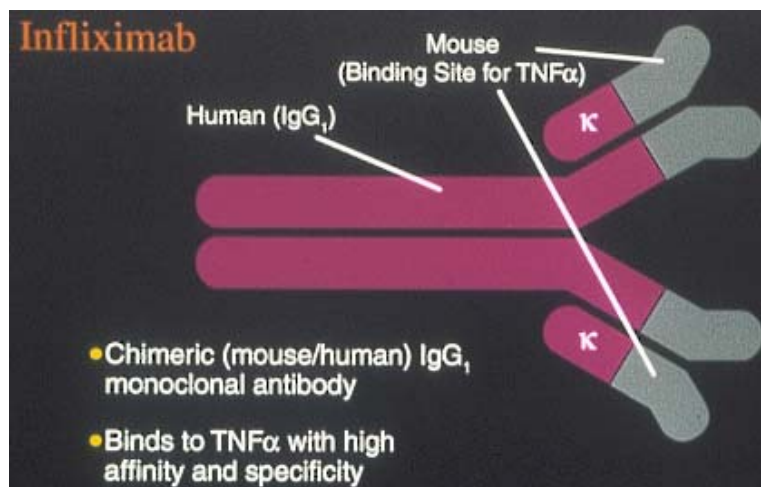


Figura 3.5

L'Infliximab oggi è utilizzato con grande beneficio nel trattamento dell'Artrite Reumatoide e della Psoriasi. Per quanto riguarda la MC, la terapia con Infliximab è efficace nell'induzione e nel mantenimento della remissione clinica; nella chiusura delle fistole enterocutanee, perianali, rettovaginali e nel

mantenimento della chiusura di queste; e nello svezzamento dalla terapia con corticosteroidi.

Di recente, l'Infliximab ha ottenuto la registrazione dell'EMA per l'impiego anche nella CU alla luce dei risultati di alcuni studi controllati.

Infliximab Label - Europa

- Artrite Reumatoide
In combinazione con methotrexate
- Spondilite anchilosante
- Artrite psoriasica
- M. di Crohn luminale
- M. di Crohn fistolizzante
- Colite Ulcerosa
- Psoriasi a placche

Tabella 3.1

ACT 1 E ACT 2 (Active Ulcerative Colitis Trials 1 e 2) *Rutgeerts et al.*

Questi studi controllati, randomizzati e in doppio cieco sono stati condotti tra il marzo del 2002 e il marzo del 2005 su un totale di 728 pazienti. Tutti i pazienti arruolati avevano una diagnosi stabilita di Colite Ulcerosa e avevano un Test di Mantoux e un Rx torace negativo. Il Mayo score totale per ogni paziente doveva essere compreso fra 6 e 12 punti e il Mayo endoscopic subscore di minimo 2 punti, a dispetto di un trattamento concomitante con corticosteroidi e/o Azatioprina o Mercaptopurina (ACT 1), e medicazioni contenenti 5-ASA (ACT2).

Durante lo studio, la terapia concomitante doveva rimanere costante se si esclude la riduzione graduale degli steroidi.

I pazienti arruolati ricevevano una dose di 5 mg o 10 mg/kg di Infliximab o placebo alle settimane 0, 2 e 6 e successivamente ogni 8 settimane fino alla settimana 22 in ACT 2, fino alla settimana 46 in ACT 1. I pazienti erano seguiti fino alla 30a settimana nell'ACT 2, fino alla 54a nell'ACT 1. Il Mayo score era determinato alle settimane 0, 8, 30 in entrambi gli studi, anche alla settimana 54 nell'ACT 1.

La risposta clinica era definita da una riduzione di un Mayo score totale di almeno 3 punti, accompagnato da una riduzione del subscore del sanguinamento rettale di almeno un punto o un subscore assoluto del sanguinamento rettale di 0 o 1. La remissione clinica era definita da un Mayo score totale di 2 o meno, con subscore che non fossero superiori a 1. La cicatrizzazione della mucosa era definita con subscore endoscopico di 0 o 1.

Tab.3.2 MAYO SCORE	
N°EVACUAZIONI/DIE	0 = normale n° di scariche per quel paziente
	1 = 1-2 scariche più del normale
	2 = 3-4 scariche più del normale
	3 = 5 o più scariche più del normale
	SUBSCORE DA 0 A 3
SANGUINAMENTO RETTALE	0 = no sangue nelle feci
	1= tracce di sangue nelle feci meno della metà delle volte
	2= evidente presenza di sangue nelle feci nella maggior parte delle volte
	3 = emissione di solo sangue
	SUBSCORE DA 0 A 3
QUADRO ENDOSCOPICO	0 = normale o inattività di malattia
	1= lieve attività di malattia (eritema, riduzione del disegno vascolare, moderata friabilità)
	2 = moderata attività di malattia (marcato eritema, perdita del disegno vascolare, friabilità, erosioni)
	3= severa attività di malattia (sanguinamento spontaneo, ulcerazioni)
	SUBSCORE DA 0 A 3
CONDIZIONI CLINICHE GENERALI	0 = normale
	1 = lieve attività
	2 = moderata attività
	3 = severa attività
	SUBSCORE DA 0 A 3

Nell' ACT 1, il 69,4 % dei pazienti che hanno ricevuto 5 mg di Infliximab e il 61,5% di quelli che ne hanno ricevuti 10 mg, hanno risposto clinicamente, rispetto al 37,2 % di quelli trattati con placebo ($p<0,001$).

Nell' ACT 2, il 64,5% dei pazienti che hanno ricevuto 5 mg di Infliximab e il 69,2% di quelli che ne hanno ricevuti 10 mg, hanno risposto clinicamente, rispetto al 29,3% di quelli trattati con placebo ($p<0,001$).

In entrambi gli studi, la percentuale di pazienti che hanno avuto risposta clinica sostenuta o vera e propria remissione è stata significativamente più elevata nei gruppi trattati con Infliximab rispetto al gruppo placebo.

Questi studi hanno dimostrato che l'Infliximab è efficace nei pazienti che hanno una CU di grado moderato severo nonostante l'utilizzo della terapia convenzionale, in termini di risposta clinica e remissione. Queste dimostrazioni risultano essere particolarmente importanti alla luce del fatto che la cicatrizzazione della mucosa sembra essere il più forte indicatore di riduzione di rischio di cancro tra i pazienti con CU. Non vi sono state significative differenze tra le due dosi di Infliximab utilizzate. Pertanto, la dose iniziale da preferire è di 5 mg/kg in modo da equilibrare questioni di sicurezza, efficacia e farmacoeconomiche.

In entrambi gli studi la percentuale di pazienti che è andata incontro ad effetti avversi ha mostrato valori simili sia nel gruppo placebo sia nei gruppi Infliximab (5 e 10 mg). Nell'ACT1, effetti avversi di grado severo si sono presentati nel 25,6% dei pazienti del gruppo placebo, nel 21,5% dei pazienti che hanno ricevuto 5 mg di Infliximab e nel 23,8% dei pazienti che hanno ricevuto 10mg di Infliximab. Nell'ACT2, i valori in percentuale riportati sono rispettivamente 19,5%, 10,7% e 9,2%. I casi di effetti collaterali severi

verificatisi nell'ACT1 sono: 1 caso di adenocarcinoma prostatico (paziente con storia di 2 anni di elevati livelli di PSA nel sangue – dose di 5 mg di infliximab); 1 caso di displasia a livello colico (dose di 5 mg di Infliximab); 1 caso di carcinoma a cellule basali (dose di 10 mg di Infliximab); 1 caso di neurite ottica (dose di 5 mg di Infliximab. Per quanto riguarda l'ACT2: 1 caso di carcinoma a cellule basali (dose di 5 mg di Infliximab); 1 caso di neuripatia motoria focale con sindrome da blocco di conduzione (dose di 10 mg di Infliximab; 1 caso di neurite ottica (dose di 5 mg di Infliximab).

In entrambi gli studi lo sviluppo di anticorpi antinucleo e anti double stranded DNA è stato più frequente nel gruppo Infliximab rispetto al gruppo placebo. Un unico caso di reazione lupus-simile si è presentato nell'ACT2 in un paziente che aveva ricevuto una dose di 5 mg di Infliximab.

Nell'ACT1 sono insorte gravi infezioni in 5 pazienti del gruppo placebo, in 3 pazienti del gruppo Infliximab 5 mg e in 8 pazienti del gruppo Infliximab 10 mg; in quest'ultimo, inoltre, si è verificato un caso di tubercolosi. Nell'ACT2 sono insorte rispettivamente in 1, 2, 3 pazienti; inoltre, nel gruppo Infliximab 5 mg si è verificato un caso di infezione da *Istoplasma Pneumonia* che è poi progredita in ARDS e ha condotto il paziente all'exitus.

Reazioni allergiche durante l'infusione si sono presentate in 13 pazienti del gruppo placebo, 12 pazienti del gruppo infliximab 5 mg e 15 pazienti del gruppo infliximab 10 mg (ACT1); rispettivamente 10, 14 e 14 nell'ACT2.

Reazioni da ipersensibilità ritardata si sono presentate in 2 pazienti del gruppo placebo e in 2 pazienti del gruppo infliximab 5 mg (ACT1); in un paziente del gruppo Infliximab 10 mg (ACT2).

I rischi nell'utilizzo dell'Infliximab devono essere soppesati con i rischi della colectomia con creazione di una pouch ileoanale: pouchite nel 50% dei

pazienti, fallimento della pouch nel 10%, riduzione della fecondità femminile nel 80% e incontinenza fecale notturna nel 24%.

In conclusione, un regime di attacco di tre dosi di Infliximab seguito dal mantenimento delle infusioni ogni otto settimane in pazienti con CU di attività moderato-severa è superiore al placebo nel raggiungimento di risposta e remissione clinica, cicatrizzazione della mucosa e svezzamento dagli steroidi per una durata che va da 30 a 54 settimane.

Altri, tra gli studi più importanti, condotti sull'utilizzo dell' Infliximab nella CU sono:

1. Studio randomizzato in doppio cieco controllato con placebo di Järnerot et al. 2005

Questo studio è stato condotto tra il luglio del 2001 e il gennaio del 2004.

Sono stati arruolati pazienti con CU severa o moderato-severa che non rispondevano rapidamente alla terapia steroidea endovenosa.

Gli indici clinici utilizzati erano:

SEO INDEX

$60 * \text{sangue nelle feci (0=assente,1=presente)} +$
 $+ \text{evacuazioni/die (0=0-3, 1=4, 2=5-7, 3=>8)} +$
 $+ 0,5 * \text{VES} - 0,4 * \text{Hb(g/l)} - 1,5 * \text{albumina(g/l)} + 200$
se <150 = remissione-lieve attività
se $150-220$ = attività moderato-severa
se > 220 = attività severa.

FULMINANT COLITIS INDEX

$\text{n.evacuazioni/die} + (0.14 * \text{PCR} > 8 \text{ mg/l})$

Criteri per arruolamento:

-CU con diagnosi certa

-SEO index > 150 al 5° 6° o 7° giorno di terapia steroidea ev o fulminant colitis index > 8 al 3°giorno.

L' esame endoscopico di controllo, gli esami ematici ed il calcolo del SEO index venivano eseguiti al 10-14°,30° e 90° giorno dopo le infusioni.

Su 45 pazienti randomizzati, 24 sono stati trattati con Infliximab e 21 con placebo. Un numero significativamente maggiore di pazienti nel gruppo-placebo (14/21) rispetto al gruppo-infliximab ha subito la colectomia (7/24).

In entrambi i gruppi tutti gli interventi sono stati eseguiti nel primo mese dopo le infusioni, ma il tempo trascorso tra le infusioni e l'operazione è risultato in media più lungo per il gruppo-infliximab (8 gg) rispetto al gruppo-placebo (4 gg). La proporzione cumulativa di pazienti non operati al 90° giorno post-infusione è stata del 71% nel gruppo-infliximab e del 33% nel gruppo-placebo.

2. Kohn et al.2002

Sono stati selezionati 13 pazienti con colite ulcerosa severa refrattaria alla terapia con metilprednisolone (60mg/die per una settimana o più). Ogni paziente è stato trattato con una singola infusione di Infliximab 5 mg pro chilo.

Nel 77% (10 su 13) hanno risposto clinicamente alla terapia migliorando già nei primi 2-3 giorni dall'infusione;2 pazienti hanno subito la colectomia totale; 1 paziente ha rifiutato l'intervento e non si è potuto eseguire un follow up; l'80% (8 su 10) di coloro che hanno risposto alla terapia ha mantenuto la remissione durante il follow up (circa 10 mesi) ed è riuscito a sospendere lo steroide.

3.4 Terapia chirurgica

Si può eseguire l'intervento chirurgico nei seguenti casi:

- pazienti con CU severa refrattaria;
- pazienti con continue riacutizzazioni;
- forme complicate (emorragie severe, colite acuta fulminante, megacolon tossico);
- pazienti ad alto rischio di sviluppare un carcinoma o già portatori di carcinoma.

Attualmente l'intervento chirurgico ottimale consiste nell'esecuzione di ileo-ano anastomosi con confezionamento di un reservoir ileale (IPAA).

L'intervento consiste di una prima fase demolitiva – la proctocolectomia totale - e di una seconda fase ricostruttiva – l'anastomosi ileo-anale.

Scopo ultimo dell'intervento è la rimozione dei tratti di colon e di retto interessati da malattia preservando la funzione sfinteriale anale. Elemento peculiare è il confezionamento del reservoir o pouch ileale, che funge da “neoretto”, in modo da ridurre il numero delle evacuazioni giornaliere. Per costruire il reservoir, l'ileo viene piegato ed anastomizzato su se stesso (più frequentemente a J). Figura 3.

Secondo la tecnica originale descritta da Parks, l'anastomosi ileo-anale viene realizzata dopo l'asportazione degli ultimi 3-4 cm di mucosa rettale, al fine di evitare sanguinamenti e riaccensioni di malattia. Questo tempo viene definito *mucosectomia*.

La conservazione dei meccanismi neuro-muscolari sfinteriali consente la normale continenza.

Attualmente, grazie all'impiego delle suturatrici meccaniche, è possibile realizzare una anastomosi vicino all'ano senza la necessità di eseguire la mucosectomia; ne consegue un un intervento più semplice, senza traumi per i

meccanismi sfinteriali, per il quale diviene spesso non necessaria l'ileostomia di protezione (a differenza di quanto avviene per l'anastomosi manuale con mucosectomia).

D'altra parte, l'anastomosi con suturatrice meccanica è più alta e lascia in sede 1-2 cm di mucosa rettale, potendone conseguire sanguinamento e problemi legati alla persistenza della colite.

In conclusione, la tecnica meccanica costituisce la prima scelta in ambito chirurgico, essendo più rapida, richiedendo minore manipolazione delle strutture sfinteriali ed arrecando ad esse il minimo danno. Il numero delle evacuazioni giornaliere – parametro indicativo della riuscita dell'intervento - è in media 4-5.

L'indicazione all'anastomosi manuale si pone principalmente nei casi di displasia multifocale, per la possibile presenza di focolai displastici sul margine distale di resezione.

La qualità della vita dei pazienti sottoposti all'intervento di ileo-ano anastomosi con pouch si è dimostrata migliore rispetto a quella dei pazienti sottoposti al solo trattamento medico o all'intervento classico di proctocolectomia.

Le complicanze dell'intervento includono emorragia ed ischemia della pouch, sepsi pelvica, formazione di fistole perianali, stenosi ano-rettale, ostruzione del tenue, scarso contenimento del reservoir, ed interessano circa il 3% dei pazienti.

Relativamente alla chirurgia d'urgenza, l'intervento di scelta consiste nella colectomia subtotale, che garantisce la possibilità di reintervenire successivamente in modo ricostruttivo. L'approccio ai casi urgenti prevede, in

genere, il trattamento medico intensivo, di scelta rispetto alla chirurgia “a caldo” gravata da un elevato tasso di complicanze post operatorie.

In caso di colite fulminante o di megacolon tossico, la terapia medica non deve, peraltro, essere protratta oltre le 72 ore, in assenza di miglioramento, in quanto ne risulterebbe un incremento della mortalità post-operatoria.

Ileoanal Pull-Through

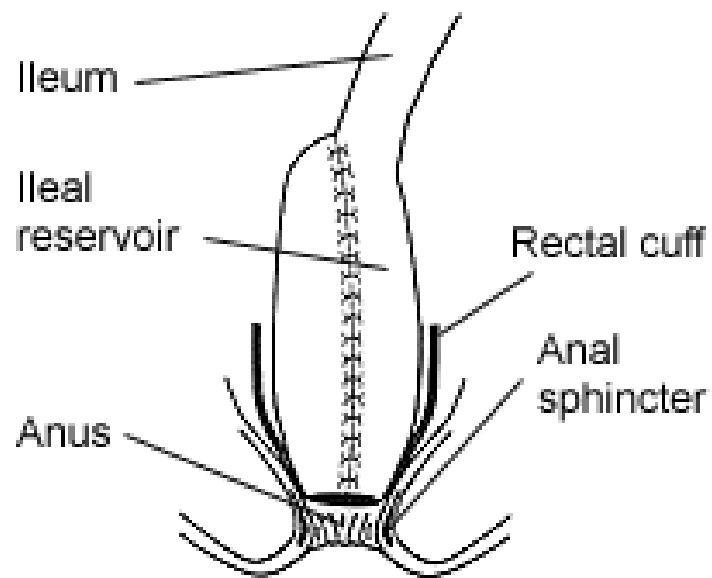


Figura 3.5

CAP.4 SCOPO DELLO STUDIO

Scopo principale dello studio è di:

- Valutare l'efficacia della terapia con Infliximab nei pazienti affetti da colite ulcerosa attiva di grado moderato-severo refrattaria ai trattamenti standard.

Scopo secondario dello studio è di:

- Valutare, nei pazienti responders, il mantenimento della remissione nel follow up effettuato dopo la terza infusione di Infliximab.

CAP.5 MATERIALI E METODI

- **Selezione dei pazienti:**

Questo studio (single-center open study) è stato condotto tra ottobre 2005 e marzo 2007.

Tutti i pazienti, prima di iniziare il trattamento, hanno firmato il consenso informato.

La selezione dei pazienti includeva uomini e donne tra i 18 e i 65 anni corticodipendenti, con diagnosi di Colite Ulcerosa confermata da colonscopia ed esame istologico, ad attività moderato-severa. Il Mayo Score (score utilizzato per definire il grado di malattia) doveva essere compreso tra 6 e 12 punti (v.tab.3.2 MAYO SCORE).

Le terapie concomitanti, in corso al momento dell'arruolamento, sono state mantenute tali durante lo studio ed includevano farmaci quali: *corticosteroidi tradizionali (prednisone) e corticosteroidi di nuova generazione (beclometasone) per via sistemica, corticosteroidi locali (somministrazione in clismi di metilprednisolone), immunosoppressori (azatioprina, 6-mercaptopurina) mesalazina per os, mesalazina locale, salazopirina per os ed antibiotici.*

Criteri di esclusione erano rappresentati da:

- infezioni in atto
- contatto con il bacillo della tubercolosi
- ascessi o produzione di materiale purulento
- leucopenia, piastrinopenia, eritropenia
- cardiopatie

- malattie demielinizzanti
- gravidanza, allattamento
- neoplasie maligne
- pregresso intervento di colectomia subtotale con ileorettoanastomosi o colectomia con pouchileoanale o ileostomia
- pregressa terapia con Infliximab o altri anti-TNF α
- diagnosi di colite fulminante o megacolon tossico
- diagnosi di M. di Crohn o di colite indeterminata.

Tutti i pazienti, prima di iniziare lo studio, hanno effettuato: esami ematici completi (emocromo con piastrine, transaminasi, γ GT, creatinina, amilasi pancreatica, lipasi, VES e PCR), markers delle epatiti virali B e C, Radiografia del torace, intradermoreazione alla tubercolina di Mantoux in modo da attestare un' adeguata funzionalità epatica, renale e pancreatica ed escludere infezioni in atto o contatto anche pregresso con il batterio della tubercolosi.

Alle pazienti di sesso femminile in età fertile è stato richiesto di assumere contraccettivi ad alta efficacia.

- **Farmaci utilizzati nello studio:**

Infliximab (Remicade®), anticorpo monoclonale umanizzato diretto contro il TNF α , somministrato alla dose di 5mg/Kg.

Premedicazione utilizzata prima di ogni infusione: idrocortisone _Flebocortid®_ (1g/100ml di fisiologica) e antistaminico _Trimeton®_ (10 mg/100ml di fisiologica).

- **Schema di somministrazione del farmaco**

Le infusioni sono state effettuate: la prima al tempo 0, la seconda infusione a due settimane dalla prima, la terza infusione ad un mese dalla seconda, le eventuali successive infusioni ad intervalli di due mesi.

- **Descrizione dello studio**

Ogni paziente, prima della prima infusione e dopo ogni infusione di Infliximab , è stato valutato dal punto di vista clinico (numero delle evacuazioni/die, presenza ed entità del sangue nelle feci, condizioni cliniche generali) e laboratoristico tramite esecuzione di esami ematici completi (emocromo, piastrine, VES, PCR, amilasi, transaminasi, GGT, creatinina).

I pazienti sono stati valutati endoscopicamente prima dell'inizio del trattamento ed entro 30 giorni dalla terza infusione di Infliximab.

Per ogni paziente è stato calcolato il Mayo Score una settimana prima della prima infusione e a distanza di un mese dalla terza infusione.

Dopo la terza infusione di Infliximab è stato eseguito, infine, un follow up che consisteva nella valutazione, eseguita mensilmente per tre mesi, dei subscore clinici del Mayo Score (numero delle evacuazioni/die, sanguinamento rettale e condizioni cliniche generali) in modo da verificare il mantenimento della risposta o della remissione clinica.

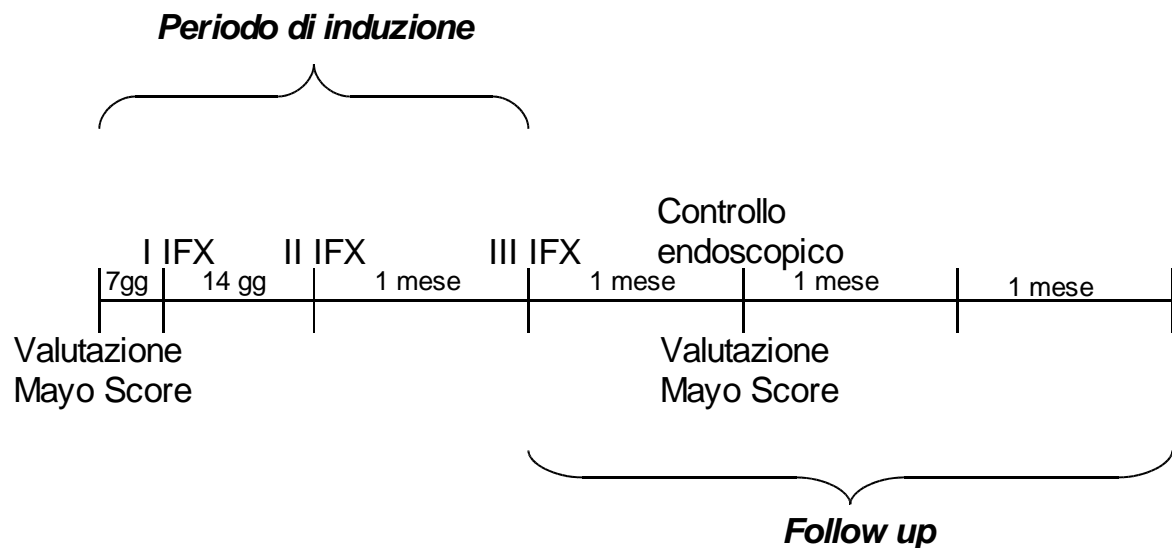


Figura 5.1 Schema dello studio

Si è definita “risposta clinica” una riduzione del Mayo score totale di ogni paziente di minimo 3 punti.

Si è definito “remissione clinica” l’ottenimento di un Mayo score totale di massimo 2 punti con subscores che individualmente non superino 1 punto.

Questi pazienti sono stati definiti “responders”.

Sono invece stati definiti pazienti “non responders” coloro che non hanno presentato le suddette variazioni del Mayo Score o hanno dovuto interrompere il trattamento a causa di peggioramento della sintomatologia o hanno presentato reazioni allergiche all’Infliximab.

Sono stati arruolati 53 pazienti, di cui 6 sono stati esclusi dallo studio per presenza di infezioni in atto, gravidanza, cardiopatia pregressa e leucopenia; 47 pazienti sono stati selezionati per lo studio.

4 pazienti hanno effettuato solo 2 infusioni di Infliximab: 2 pazienti a causa di reazioni allergiche verificatesi durante le infusioni (rush cutaneo, gonfiore al volto, broncospasmo) risoltesi dopo interruzione dell'infusione e ulteriore somministrazione di idrocortisone e antistaminico; 2 pazienti a causa di peggioramento della sintomatologia.

43 pazienti hanno effettuato almeno 3 infusioni di Infliximab e, tra questi, 27 pazienti hanno ricevuto tre infusioni, 9 pazienti ne hanno effettuate 4, 5 pazienti ne hanno effettuate 5, 1 paziente ne ha effettuate 8, 1 paziente ne ha effettuate 9.

Hanno effettuato un numero maggiore di tre infusioni di Infliximab i pazienti che, al controllo endoscopico, presentavano un miglioramento, ma con residui tratti di mucosa colica con attività di malattia.

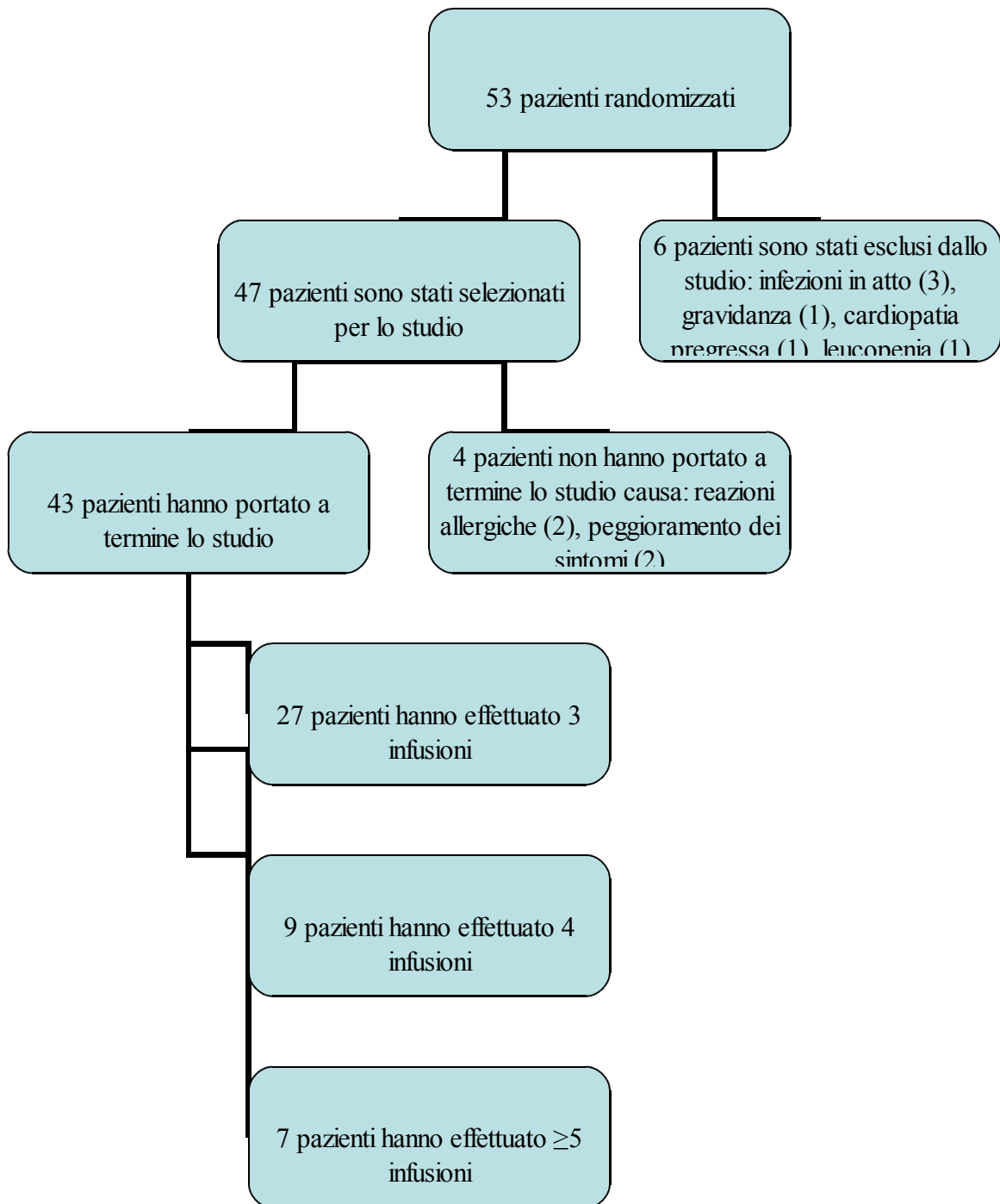


Figura 5.2

Tab 5.2 Caratteristiche dei pazienti (numero totale dei pazienti randomizzati=47)			
ETA'	Media: 39 anni	Range: 18-63 anni	
SESSO	29 femmine	18 maschi	
FUMO	31 non fumatori	13 ex-fumatori	3 fumatori
ESTENSIONE COLITE	9 retto-sigma	21 colite sinistra	17 pancolite
DURATA DI MALATTIA	Media: 7,9 anni	Range: 1-24 anni	
MANIFESTAZIONI EXTRAINTESTINALI	10 muscolo- scheletriche	1 oculari	3cutanee
COMPLICANZE	2 fistole perianali	1 ragade anale	1 cavitating ulcer
INDICI DI FLOGOSI ALTERATI	16 PCR	21 VES	6 leucocitosi

Tab 5.3 Terapia in corso all'inizio della terapia con Infliximab ev	
FARMACO	N°PAZIENTI
Corticosteroidi tradizionali	21
Corticosteroidi di nuova generazione	13
Corticosteroidi in clismi	13
Immunosoppressori	14
Mesalazina per os	33
Mesalazina in clismi	19
Salazopirina	5
Antibiotici	4

CAP.6 ANALISI STATISTICA E RISULTATI

Hanno raggiunto la remissione clinica 22 pazienti su 47 (46,8%).

Hanno risposto clinicamente 12 pazienti su 47 (25,5%).

Quindi, in totale, i pazienti “responders” sono risultati essere 34 su 47 ossia il 72,3%.

I pazienti “non responders” sono risultati essere 13 su 47 ossia il 27,7% (v.fig.6.1 e 6.2).

Tra i pazienti responders, 21/34 pazienti (61,8%) dopo tre infusioni di Infliximab non utilizzavano alcun tipo di steroide nè per via sistemica né per via locale, 6 pazienti hanno ridotto le dosi dello steroide sistemico in modo significativo, mentre 6 pazienti hanno continuato la terapia steroidea solo per via topica (v. fig.6.3).

Tra i pazienti responders, 12/34 pazienti (35,3%) prima delle infusioni di Infliximab avevano PCR elevata; dopo tre infusioni solo 2 pazienti (5,9%) presentavano valori di PCR alterati.

Tra i pazienti non responders, 4/13 pazienti (30,8%) prima delle infusioni di Infliximab avevano PCR elevata; dopo tre infusioni 6 pazienti (46,2%) presentavano valori di PCR alterati (v.fig.6.4).

Nei 34 pazienti responders è stato effettuato un follow up di tre mesi dopo la terza infusione di Infliximab per verificare il mantenimento della risposta o della remissione clinica (v.fig.6.5):

- tutti i pazienti che hanno raggiunto la remissione clinica (22 pazienti) hanno dimostrato mantenimento dei valori dei subscore clinici del Mayo Score. Tra questi, 2 pazienti sono tuttora in terapia con Infliximab

- tra i pazienti che hanno risposto clinicamente (12 pazienti), 10 pazienti (83,3%) hanno dimostrato mantenimento dei valori dei subscore clinici del Mayo Score, non hanno raggiunto la remissione clinica e sono tuttora in terapia con Infliximab; 2 pazienti sono andati incontro ad intervento chirurgico in elezione.

Tra i 13 pazienti non responders, 8 pazienti sono andati incontro ad intervento chirurgico in elezione, 3 pazienti sono tuttora in terapia con Infliximab, 2 pazienti sono in terapia con steroidi sistemici di nuova generazione.

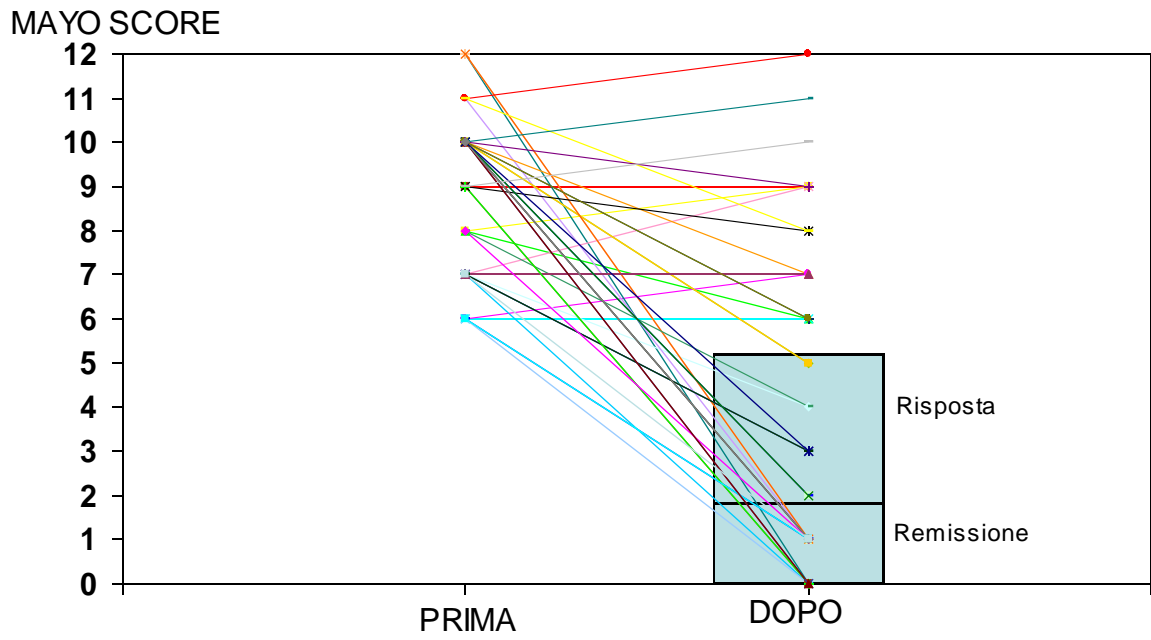


Figura 6.1

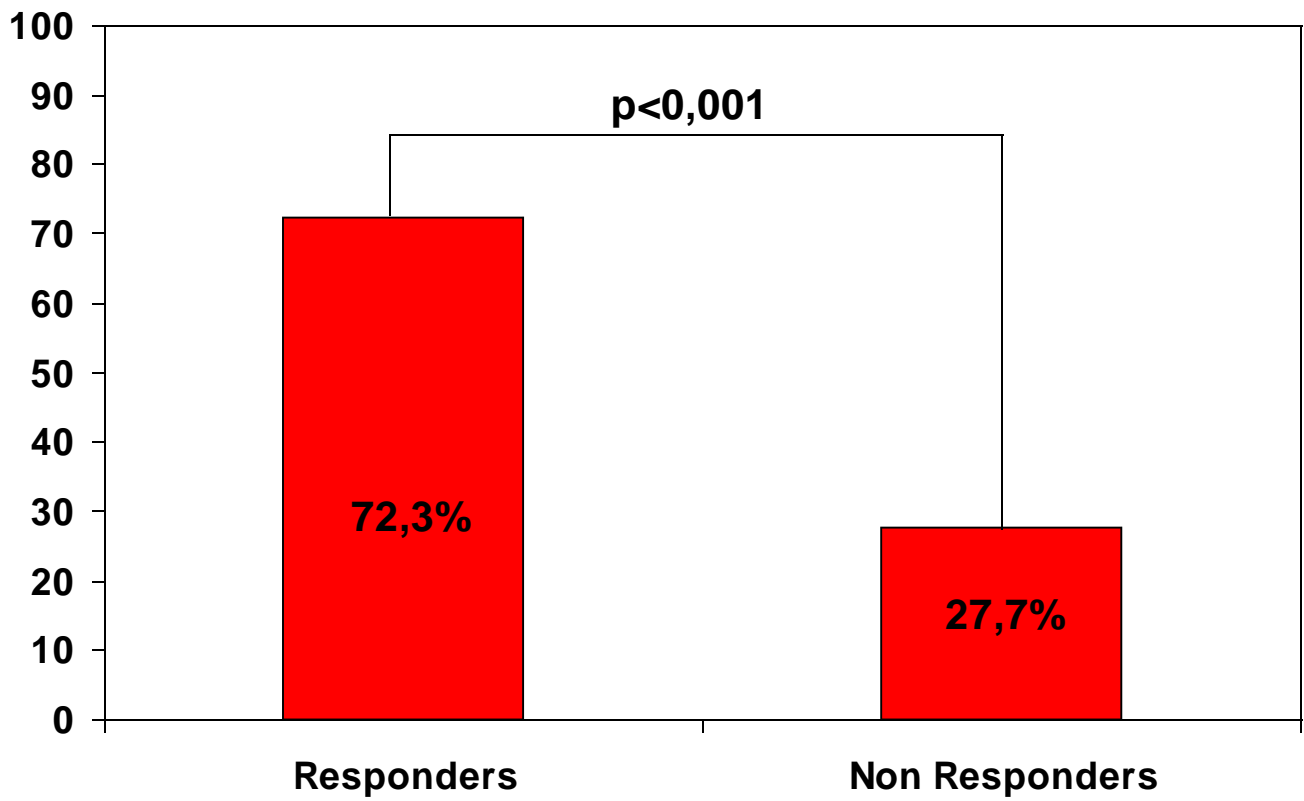


Figura 6.2

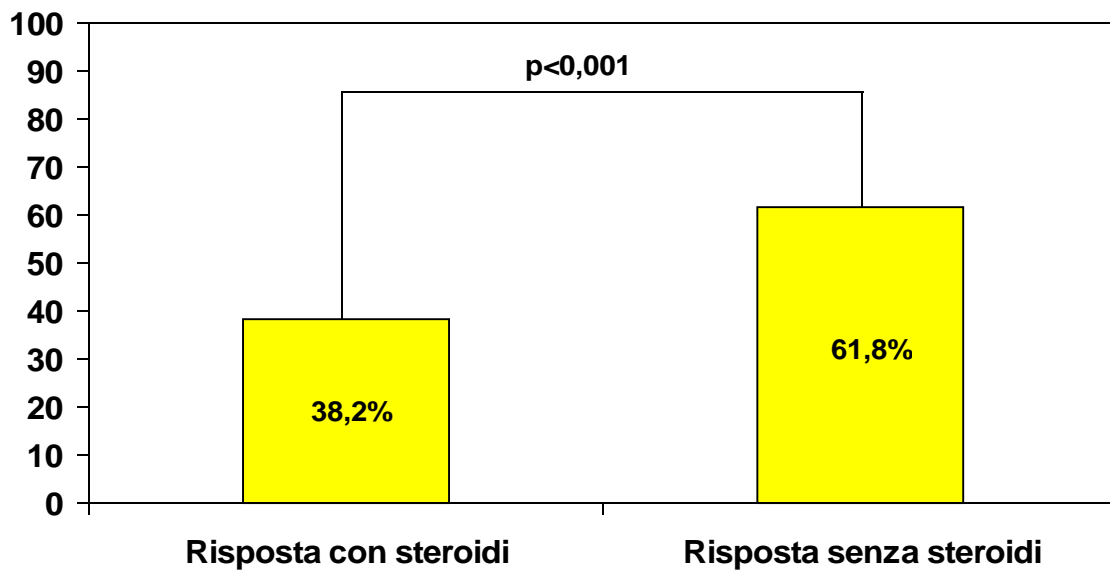


Figura 6.3

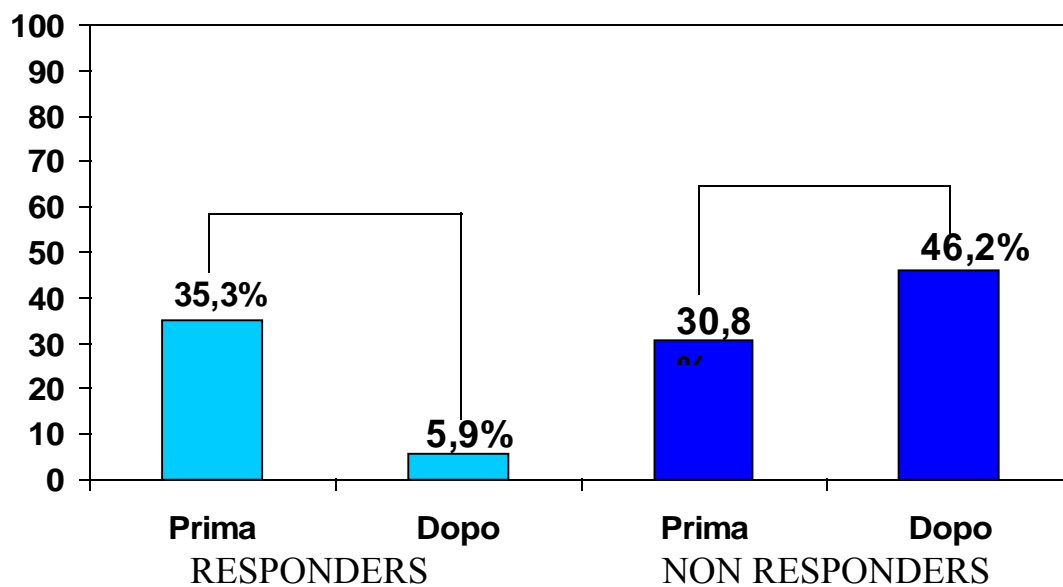


Figura 6.4 PCR alterata: percentuali a confronto

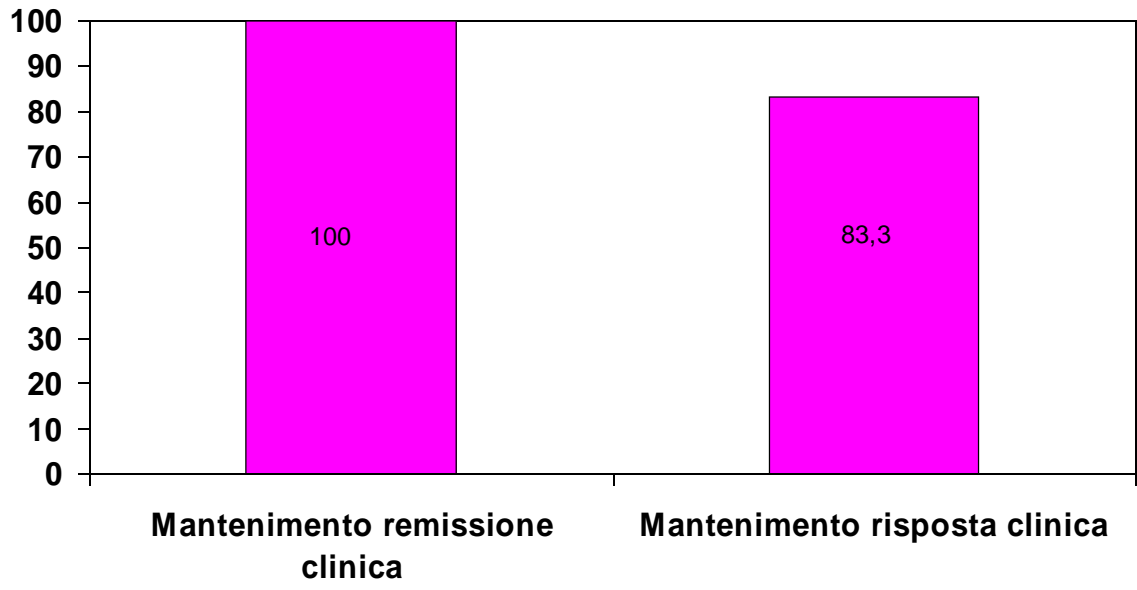


Figura 6.5

CAP.7 DISCUSSIONE

Il nostro studio dimostra che l'Infliximab, somministrato per via endovenosa, è efficace nei pazienti con Colite Ulcerosa ad attività moderato-severa e, quindi, rappresenta una valida opzione terapeutica alternativa all'intervento chirurgico per questo gruppo di pazienti.

In effetti, secondo i nostri dati, il 72,3% dei pazienti sottoposti al trattamento sono risultati "responders" ed hanno evitato l'intervento chirurgico a cui inevitabilmente sarebbero stati destinati.

I nostri risultati confermano i dati dei precedenti studi effettuati (Järnerot, ACT1 e ACT2 ecc.), ma ci permettono di definire meglio, in termini di efficacia e sicurezza, sia la tipologia di pazienti da sottoporre al trattamento, sia lo schema di somministrazione da utilizzare.

Infatti, nel nostro studio, sono stati selezionati pazienti con CU moderato-severa, non solo tutti corticodipendenti e refrattari alla mesalazina o alla salazopirina, ma anche tutti refrattari o intolleranti alla terapia con immunomodulatori, a differenza dell'ACT1 e ACT2 in cui erano stati arruolati anche pazienti refrattari alla sola mesalazina. Per questi pazienti, quindi, molto più complessi, il trattamento con Infliximab rappresentava l'ultima possibilità per evitare l'intervento.

L'altra grande differenza sta nell'aver limitato il numero delle infusioni totali effettuando la valutazione dei pazienti dopo tre sole infusioni di Infliximab con evidente vantaggio per quanto riguarda la safety (in particolare nei pazienti non responders). In effetti non abbiamo riscontrato effetti collaterali maggiori nei pazienti trattati nel nostro studio. Le uniche reazioni avverse sono state: rush cutaneo, gonfiore al volto, broncospasmo e astenia marcata.

In conclusione, si può affermare che il trattamento con Infliximab garantisce un' alta percentuale di successo in termini di efficacia nei pazienti con CU refrattaria ed è ben tollerato dai pazienti.

BIBLIOGRAFIA

Fiocchi C. Inflammatory Bowel Disease: etiology and pathogenesis. Gastroenterology, 1998;115:182-205

Barbara A. Hendrickson, Ranjana Gokhale and Judy H. Cho Clinical Aspects and Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease. Clin Microbiol Rev. 2002 January; 15(1): 79–94.

Warren Strober, Ivan Fuss, and Peter Mannon The fundamental basis of inflammatory bowel disease J Clin Invest. 2007 March 1; 117(3): 514–521.

Peter Laszlo Lakatos, Recent trends in the epidemiology of inflammatory bowel diseases: Up or down? World J Gastroenterol 2006 October 14;12(38): 6102-6108

Ranzi T. et al Epidemiological aspects of inflammatory bowel disease in a North Italian population: a 4 year prospective study Eur J gastroenterol Hepatol 1996 Jul; 8(7):657-61

Paolo Giochetti, Claudia Morselli, Fernando Rizzello. Approccio integrato clinico-ecografico. Ecografia clinica del tratto gastroenterico; a cura di Vincenzo Arienti; ATHENA srl; seconda edizione 2006; 211-220.

Andrea Domanico, Vincenzo Arienti. Colite ulcerosa. Ecografia clinica del tratto gastroenterico; a cura di Vincenzo Arienti; ATHENA srl; seconda edizione 2006; 259-270.

*Rizzello F., Gionchetti P., Venturi A., Amadini C., Romgnoli R., Campieri M. Review article: monitoring activity in ulcerative colitis *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16(suppl.4): 3-6*

*Casini-Raggi V., Kam L, Chong Y.J.T., et al Mucosal imbalance of Interleukin-1 and Interleukin-1 receptor antagonist in IBD: a novel mechanism of chronic inflammation. *J Immunol* 1995;154:2434-40*

Fiocchi C. Cytokines in inflammatory bowel disease Austin, TX..R.G.Landes;1996

*Kam L.Y., M.D., Targan S.R., M.D. Cyokine-based therapies in inflammatory bowel disease. *Curr Op Gastroenterol* 1999;15:302-307*

Kosarsky KF, Couture LA Message therapy: gene therapy that targets mRNA sequence and stability. *Am J Hum Genet* 1997;61: 790-794.

Reinecker H.C., Loh E.Y., Ringler D.J. Et al Monocyte chemoattractant protein 1 gene expression in intestinal epithelial cells and inflammatory bowel disease mucosa. *Gastroenterology* 1995;108:40-50

Schreiber S., Heinig T., Thiele H.G., Raedler A. Immunoregulatory role of interleukin 10 in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1995; 108:1434-44

Barnich N, Darfeuille-Michaud A. Adherent-invasive Escherichia coli and Crohn's disease *Curr Opin Gastroenterol.* 2007 Jan;23(1):16-20

Venturi A., Gionchetti P., Rizzello F. et al. Impact on the composition of the fecal flora by a new probiotic preparation: preliminary data on maintenance treatment of patient with ulcerative colitis. *Aliment Pharmacol Ther,* 1999;13:1103-1108.

Gionchetti P., Rizzello F., Habal F., Morselli C., Amadini C., Romagnoli R., Campieri M. Standard treatment of Ulcerative Colitis. *Digestive Diseases* 2003;21:157-167

Gionchetti P., Rizzello F., Morselli C., Campieri M. Review article: problematic proctitis and distal colitis *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20(suppl.4):93-96

Bossa F. et al Continuous infusion versus bolus administration of steroids in severe attacks of Ulcerative Colitis: a randomized, double blind trial *Am J Gastroenterol* 2007;102:601-608

Fleshman JW, Cohen Z, McLeod RS, Stern H, Blair J. The ileal reservoir and ileoanal anastomosis procedure: factor affecting technical and functional outcome. *Mayo Clin. Proc*, 1994;69:409-15

Sands BE. Biologic therapy for inflammatory bowel disease. *Inflam Bowel Dis* 1997;3:95-113

Kazuhiko Nakamura, Kuniomi Honda, Takahiro Mizutani, Hirotada Akiho, Naohiko Harada Novel strategies for the treatment of inflammatory bowel disease: Selective inhibition of cytokines and adhesion molecules *World J Gastroenterol* 2006 August 7;12(29): 4628-4635

Sherman-Gold R. Monoclonal antibodies: the evolution from the 80's magic bullets to mature, mainstream applications as clinical therapeutics. *Genetic Eng News* 1997;17:4,35

Paul Rutgeerts, William J.Sandborn et al. Infliximab for induction and maintenance therapy for Ulcerative Colitis N Engl J Med 2005; 353: 2462-76

William Y. Chey et al. Infliximab for refractory Ulcerative Colitis Am J Gastroenterol. 2001 Aug;96(8):2294-6.

Gunnar Järnerot et al. Infliximab as rescue therapy in severe to moderately severe Ulcerative Colitis: a randomized, placebo-controlled study Gastroenterology 2005;128: 1805-1811