

Università degli Studi del Piemonte Orientale "Amedeo Avogadro"

Facoltà di Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Scienze Mediche



Dottorato di Ricerca in "MEDICINA MOLECOLARE"

Ciclo XX

Relazione IV anno di corso

**RECIDIVA DI EPATITE C POST-TRAPIANTO:  
GLI ANTICORPI ANTI-CITOCROMO 2E1 PREDICONO LA  
SEVERITÀ DELLA NECROINFIAMMAZIONE**

Candidato: Dr CRISTINA RIGAMONTI

Tutor: Prof. Emanuele Albano

Anno accademico 2007/2008

# SEZIONE 1

## RISULTATI SCIENTIFICI

### INTRODUZIONE

Il trapianto di fegato è il trattamento di scelta nei pazienti con cirrosi da virus dell'epatite C (HCV) in fase avanzata. Dopo il trapianto l'infezione recidiva nel 100% dei pazienti con HCV-RNA positività pre-trapianto e determina una nuova epatite nella maggior parte dei casi (1;2).

Nei pazienti trapiantati la malattia è più rapida ed aggressiva rispetto a quella osservabile nei pazienti immunocompetenti (3). Infatti, in questi ultimi la cirrosi si sviluppa nel 20-25% dei casi, dopo 20-30 anni dal contagio con il virus dell'epatite C. Al contrario, nel post-trapianto, fino al 30% dei pazienti evolve a cirrosi in 5 anni (3), pur considerando che la reale incidenza di cirrosi C post-trapianto è sottostimata laddove non si eseguono biopsie protocolлари. Altrettanto rapido nel setting del trapianto appare il decorso della cirrosi verso l'insufficienza epatica e la perdita del graft (3-5). Sebbene sembri evidente che lo stato di immunodepressione indotto dalla terapia immunosoppressiva modifichi di per sé la storia naturale dell'epatite C post-trapianto, l'effetto di numerosi altri fattori responsabili del pattern e della severità della ricorrenza HCV post-trapianto rimane tuttora un campo di intensa ricerca. L'identificazione dei fattori, sia presenti pre-trapianto che sviluppati nel post-trapianto, capaci di influenzare la storia naturale della recidiva epatica C è di notevole importanza per l'individuazione dei pazienti ad alto rischio di ricorrenza severa, per il management post-trapianto e anche per una migliore allocazione degli organi.

Esistono una serie di fattori potenzialmente in grado di contribuire alla progressione dell'epatite C (6). In aggiunta a quelle note nel paziente immunocompetente, ci sono variabili uniche nel setting del trapianto che complicano ulteriormente le difficili interazioni tra virus ed ospite. Tra queste sono inclusi i fattori legati alla chirurgia, particolarmente il tempo di ischemia e il danno da riperfusionе, quelli correlati al donatore come l'età, l'istocompatibilità tra il donatore e il ricevente, il chimerismo immunologico ed infine quelli secondari alla terapia immunosoppressiva (6).

Tra i fattori virologici una elevata viremia HCV pre-trapianto (7-9), precoce aumento della viremia post-trapianto (10), una elevata espressione di forme replicative del virus nel fegato (8), l'infezione con i genotipi virali 1 e 4 (11-13), la coinfezione con CMV (14) sono i più accreditati. Alcune caratteristiche del ricevente tra cui l'età avanzata, la razza non-bianca (1;11), il sesso femminile (15) ed una ridotta risposta immune HCV-specifica sono fattori prognostici negativi. Infine, tra i fattori legati al donatore l'età avanzata (superiore a 50 anni) (16-18) e la steatosi del graft (15) si associano a ricorrenza epatica C più severa. I cambiamenti nella modalità di immunosoppressione post-trapianto possono anch'essi influenzare l'evoluzione della recidiva di epatite C, in particolare modificazioni sostanziali e repentine dello stato di immunodepressione,

con rapida parziale ricostituzione del sistema immune in grado di influenzare negativamente l'equilibrio tra HCV circolante ed ospite (6;19-23).

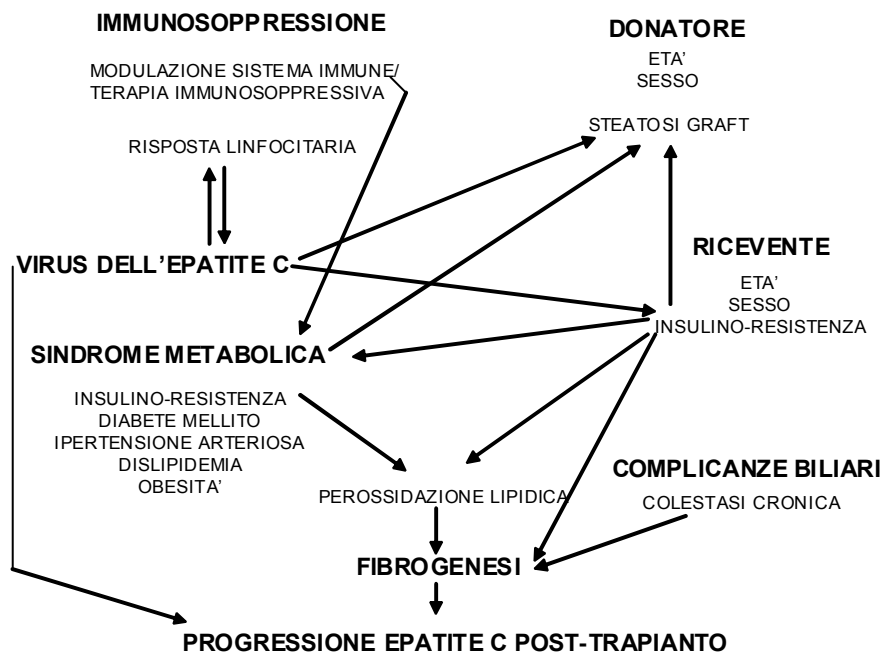
Dati recenti indicano inequivocabilmente che la sopravvivenza dei pazienti trapiantati per epatite C è ridotta (24) ed è significativamente inferiore a quella dei trapiantati per epatopatia non HCV-correlata (25). Vi è inoltre evidenza che la recidiva di epatite C è ancora più severa negli ultimi anni, forse in relazione all'utilizzo di "donatori anziani" e di farmaci immunosoppressori più potenti (11;15;16).

Il meccanismo patogenetico che sta alla base della rapida evoluzione del danno epatico in un consistente sottogruppo di pazienti trapiantati con recidiva di epatite C non è ancora del tutto chiarito ed è verosimilmente multifattoriale. Certamente, le alterazioni immunologiche derivanti dalla manipolazione del sistema immune per scongiurare il rigetto d'organo, hanno un ruolo preminente nell'evoluzione dell'infezione verso la cirrosi, come avviene in altri modelli di immunodeficienza (coinfezione con virus HIV). È noto infatti che l'immunosoppressione facilita la replicazione virale e modula la risposta immune linfocitaria T CD4+ e CD8+ HCV-specifica, che è fondamentale per l'eliminazione di HCV in fase acuta.

In aggiunta alle suddette alterazioni immunologiche, la presenza di fattori potenzialmente fibrogenetici come complicanze ischemiche/biliari e sindrome da insulinoresistenza/steatosi può favorire la progressione della recidiva epatitica C. Il danno ossidativo, che è dimostrato aumentare nel corso dell'epatite cronica C (26-29) e nel post-trapianto (30), può agire da cofattore di progressione di per sé mediante l'attivazione della fibrogenesi e mediante l'induzione di meccanismi immunitari di danno. Ancora non chiaro è, infine, il ruolo patogenetico della comparsa di reazioni autoimmuni, evento frequente nel post-trapianto, caratterizzato dalla comparsa nel siero di autoanticorpi tissutali, indicativi della presenza di danno epatico (31).

È verosimile che l'evoluzione dell'epatite C post-trapianto sia la risultante della sinergica interazione di numerosi fattori, la cui analisi è di fondamentale importanza per la comprensione della sua patogenesi. Il trapianto di fegato rappresenta un modello unico di ricerca per studiare l'immunopatogenesi del danno da HCV nelle fasi precoci di cronicizzazione dell'infezione. Infatti, l'impatto della comparsa di fattori clinici di progressione può essere seguito strettamente nel tempo unitamente al monitoraggio della risposta immune.

## COMPLESSE INTERAZIONI NELLA PATOGENESI DEL DANNO HCV-MEDIATO POST-TRAPIANTO



### Danno ossidativo e trapianto di fegato

È stato dimostrato che il processo di perossidazione lipidica è aumentato nel trapianto nella fase intraoperatoria durante la riperfusione epatica, consistente con il danno da ischemia/riperfusione (30). Sebbene nell'immediato post-trapianto lo stress ossidativo si riduca, esso aumenta nuovamente gradualmente nel primo anno post-trapianto in modo tempo-dipendente, ma indipendentemente da eventi quali rigetto, ricorrenza dell'epatopatia o insufficienza del graft (30). Tali dati suggeriscono come nel post-trapianto lo stress ossidativo possa essere considerato un cofattore di danno di per sé, indipendente dallo sviluppo di altri eventi patogenetici, e presumibilmente legato al setting del trapianto, non ultima l'immunosoppressione stessa. Infatti, sebbene al tacrolimus siano state attribuite proprietà antiossidanti (32), la ciclosporina A sembrerebbe avere un potenziale pro-ossidante (33).

Il coinvolgimento dello stress ossidativo nella patogenesi dell'epatite C pre-trapianto è supportato da evidenze cliniche, in particolare dalla dimostrazione nel siero e nel fegato di pazienti affetti di marcatori di danno ossidativo (26-29). Le specie reattive dell'ossigeno (ROS) prodotte in eccesso in corso di danno cellulare, interagendo con gli acidi grassi polinsaturi contenuti nei fosfolipidi, danno luogo al processo di perossidazione lipidica, i cui prodotti terminali consistono in residui aldeidici (4-idrossinonenale, HNE e malonildialdeide, MDA). Nei modelli di fibrosi, i prodotti di perossidazione lipidica sono risultati necessari e sufficienti per indurre l'attivazione delle cellule stellate epatiche e, tramite la stimolazione delle vie di signaling intracellulare, la produzione di

TGF- $\beta$ 1 (il più potente stimolo fibrogenico) e di collagene I (34-37) da parte delle cellule stellate. I prodotti terminali del processo di perossidazione lipidica, in particolare la MDA, sono in grado di legarsi alle proteine endogene e formare addotti stabili, utili markers di avvenuta perossidazione lipidica. Alcuni studi hanno dimostrato che il danno ossidativo nei pazienti con epatite cronica C e/o malattia alcolica è associato allo sviluppo di anticorpi IgG circolanti diretti contro epitopi derivati dalle proteine modificate dai prodotti di perossidazione lipidica (addotti proteine-MDA) (38). Tali autoanticorpi correlano con la severità di malattia nell'epatite cronica C (38) e sono stati recentemente identificati come fattori predittivi indipendenti di sviluppo di fibrosi avanzata nella NAFLD (39). È stato dimostrato, inoltre, che lo stress ossidativo è in grado di generare, oltre che una risposta immune di tipo umorale, anche una risposta cellulare T CD4+ diretta contro gli addotti proteine-MDA, strettamente correlata alla produzione dei sopraccitati anticorpi IgG, e verosimilmente espressione di meccanismo immuno-mediato di danno epatico evocato dalla presenza di stress ossidativo (40).

#### Autoimmunità e trapianto di fegato

Lo comparsa di autoanticorpi tissutali post-trapianto è un evento comune (31). Lo sviluppo di reazioni autoimmuni asintomatiche e di epatopatia autoimmune post-trapianto sono documentate con sempre maggior frequenza.

Ci sono poche segnalazioni in letteratura in cui il siero dei pazienti è stato testato prima e dopo il trapianto e queste documentano che la prevalenza di autoanticorpi aumenta nel tempo dopo il trapianto. La presenza di autoanticorpi è stata associata ad un sfavorevole decorso clinico post-trapianto, con sviluppo di epatite cronica, disfunzione epatica severa, rigetto cronico, perdita dell'organo e morte sia in serie di pazienti adulti trapiantati che pediatrici (41).

I targets antigenici per autoimmunità fegato-specifica sono specie specifici (antigeni nonpolimorfici), pertanto condivisi da ricevente e donatore; l'organo trapiantato è ripopolato dalle cellule dendritiche del ricevente.

I possibili fattori favorenti l'autoimmunità nel post-trapianto sono:

- rilascio di neoantigeni dai tessuti danneggiati
- farmaci inibitori della calcineurina (ciclosporina, tacrolimus) mediante induzione degli isoenzimi del citocromo P450 e interferenza con linfociti T regolatori. I farmaci inibitori della calcineurina predispongono allo sviluppo di autoimmunità e malattie autoimmuni, verosimilmente interferendo con i meccanismi di maturazione dei linfociti T o con la funzione delle cellule T regolatorie, con conseguente attivazione di cloni T cellulari autoaggressivi.
- infezioni virali mediante microchimerismo, stimolazione policlonale linfocitaria, aumentata espressione di antigeni MHC di classe I e II, interferenza con meccanismi immunoregolatori (31).

Tra i targets molecolari delle reazioni autoimmuni in corso di epatopatia di diversa eziologia, in pazienti trapiantati di fegato e non, figurano gli enzimi della famiglia dei citocromi P450. Nei pazienti pediatrici trapiantati di rene è stata descritta una prevalenza pari a 21% di reattività contro diversi isoenzimi del citocromo P450 (CYP2E1, CYP3A4, CYP1A2, CYP2C9) nei trattati con ciclosporina, 29% (CYP2E1, CYP3A4, CYP1A2) nei trattati con tacrolimus dopo switch da ciclosporina e 25% (CYP2E1, CYP3A4) nei trattati con tacrolimus. La reattività anti-CYPs è risultata correlata all'età di avvio di terapia immunosoppressiva e alla durata della stessa e associata, in alcuni casi, a tossicità farmacologica e al rigetto d'organo (42). Nei pazienti adulti trapiantati di rene è stata descritta una prevalenza di autoanticorpi anti-CYPs pari al 7% (CYP2E1, CYP3A4) (43).

In corso di epatite cronica C, è stata dimostrata la presenza di reazioni autoimmuni dirette contro diversi isoenzimi della superfamiglia del citocromo P450; in particolare autoanticorpi diretti contro epitopi del citocromo P450 2D6 (CYP2D6) sono presenti in circa il 10% dei pazienti con epatite cronica C (44;45), e autoanticorpi anti-citocromo P450 2A6 (CYP2A6) sono stati riscontrati nel 2-8% dei casi, soprattutto in associazione con gli autoanticorpi LKM-1 (46). Inoltre, nei pazienti con epatite cronica C, il nostro gruppo ha recentemente dimostrato una prevalenza pari al 40% di autoanticorpi IgG anti-CYP2E1, anticorpi diretti prevalentemente contro epitopi conformazionali, non cross-reattivi con il target degli autoanticorpi LKM1 (CYP2D6), e la cui presenza è risultata indipendente dal consumo di alcol e significativamente associata alla severità della piecemeal necrosis (47).

La risposta immune umorale generata dallo stress ossidativo e autoimmune ed il loro eventuale impatto nel setting del trapianto non sono ancora stati indagati.

## **SCOPO DEL LAVORO**

Gli scopi dello studio sono i seguenti:

- identificazione dei marcatori serici di danno ossidativo nel post-trapianto
- valutazione dell'eventuale risposta immune umorale (anticorpi IgG) diretta contro proteine modificate dai marcatori di perossidazione lipidica
- valutazione della prevalenza e dell'eventuale rilevanza clinica della risposta autoimmune umorale (autoanticorpi IgG) diretta contro il citocromo P450 2E1 sulla progressione dell'epatopatia C post-trapianto mediante correlazione con danno istologico, eventuale presenza di cofattori clinici, caratteristiche del ricevente e terapia immunosoppressiva.

## **MATERIALI E METODI**

Lo studio è stato svolto in collaborazione tra l'Ospedale Maggiore Policlinico - Università di Milano e il Laboratorio di Patologia, Dipartimento di Scienze Mediche (Prof. Emanuele Albano) - Università del Piemonte Orientale.

### Pazienti

Sono stati inclusi nello studio 58 pazienti trapiantati presso il Centro Trapianti di Fegato dell'Ospedale Maggiore Policlinico per epatopatia da virus dell'epatite C che, dal Gennaio 2003 al Dicembre 2006, sono stati sottoposti a biopsia epatica di protocollo a 12 mesi dal trapianto.

### Sieri

Il siero dei pazienti è stato raccolto al momento del trapianto, al 6° e al 12° mese post-trapianto.

Sui campioni di siero sono state effettuate le seguenti analisi:

- RT-PCR con primers commerciali per la determinazione qualitativa dell'HCV-RNA; quantificazione della viremia C mediante tecnica del branched-DNA (2.0, Quantiplex, Emeryville,CA).
- Determinazione degli autoanticorpi antinucleo (ANA), anti-muscolo liscio (SMA), e LKM1 mediante tecnica di immunofluorescenza indiretta sia su substrato di ratto che su cellule Hep-2 e tecnica Western blot per lo studio delle specificità antigeniche.
- Tests immunoenzimatico ELISA per la quantificazione della produzione di IgG dirette contro epitopi derivati da proteine modificate dai prodotti di perossidazione lipidica o ossidate. Si utilizzano piastre ELISA ibridate con albumina umana nativa e addotti albumina umana-malonildialdeide, albumina umana-lipoperossido, cardiolipina ossidata. In presenza di anticorpi anti-addotti nel siero dei pazienti si ha la formazione di un legame antigene-anticorpo, rivelato con l'utilizzo di un anticorpo secondario marcato.
- Test immunoenzimatico ELISA per la misurazione degli anticorpi anti-CYP2E1 utilizzando come antigene il citocromo P450 2E1 ricombinante umano. Il siero di 60 soggetti sani donatori di sangue matched per età e sesso con i pazienti è stato utilizzato come controllo. La soglia di positività degli anticorpi, espressi in unità di densità ottica a 490 nm, è stata scelta calcolando il valore al 97° percentile nei controlli.

Metodica: si utilizzano piastre ELISA ibridate con citocromo P450 2E1 ricombinante umano solubilizzato in tampone bicarbonato (pH 9,6) e piastre ibridate con lo stesso volume di solo tampone bicarbonato. I siti di legame non-specifici sono bloccati mediante 1 ora di incubazione in soluzione contenente albumina umana sierica disciolta in soluzione fosfato (PBS). I sieri dei pazienti (diluiti 1:50) sono aggiunti alle piastre in duplicato e incubati per 1 h a 37°C, in seguito vengono effettuati 5 lavaggi con PBS e Triton. In presenza di anticorpi anti-CYP2E1 nel siero dei pazienti si ha la formazione di un legame antigene-anticorpo,

rivelato con l'utilizzo di un anticorpo secondario marcato (anti-IgG legato alla perossidasi). I risultati sono espressi in unità di densità ottica (o.d.) a 490 nm dopo aver sottratto la reattività di base (background) dei sieri testata nelle piastre contenenti solo albumina umana sierica.

### Biopsie epatiche

La biopsie epatiche sono state effettuate per via percutanea sotto guida ecografica (ago Menghini automatico, 16 G, Biomol, Roma). I campioni di biopsia epatica, per definizione di lunghezza superiore a 1,5 cm, sono stati analizzati per la presenza di necroinfiammazione e fibrosi secondo lo score di Ishak (48). È stata definita necroinfiammazione severa la presenza di grading  $\geq 9$  e fibrosi severa la presenza di staging  $\geq 4$ . La steatosi è stata valutata secondo uno score semiquantitativo arbitrario sulla base della percentuale di epatociti con infiltrazione di grasso: assente <5%; lieve 5-24%; moderata 25-50%; severa >50%.

Il rigetto acuto cellulare è stato valutato secondo i criteri di Banff (49). Caratteristiche di rigetto cellulare tardivo overlapping con caratteristiche istologiche di epatite C sono state valutate come descritto da Demetris (50).

### Analisi statistica

L'analisi statistica è stata effettuata mediante software SPSS. Le differenze tra i diversi gruppi di pazienti sono state testate mediante Mann-Whitney U test. Il test esatto di Fisher è stato utilizzato per il confronto di frequenze tra i gruppi. Le differenze o Chi-square. L'effetto indipendente delle variabili significative è stato valutato mediante analisi logistica di regressione. L'analisi di Kaplan-Meier è stata effettuata per valutare la probabilità di sviluppo di recidiva epatitica severa. I fattori di rischio associati a necroinfiammazione e fibrosi severa sono stati valutati mediante analisi proporzionale di Cox.

## **RISULTATI**

Dei 58 pazienti inizialmente inclusi nello studio, 12 non sono stati ulteriormente considerati per decesso entro i tre mesi dal trapianto (n=9) o perché hanno rifiutato le biopsie epatiche di follow-up (n=3). I rimanenti 46 pazienti (80% maschi) analizzati presentavano tutti recidiva di epatite C post-trapianto, erano stati consecutivamente sottoposti a biopsia epatica al 12° mese post-trapianto ed avevano un follow-up di almeno 24 mesi e una o più biopsie epatiche nel corso del follow-up (ultima biopsia epatica ad un tempo mediano dal trapianto pari a 29 mesi; range interquartile 18-39 mesi). L'età mediana al trapianto era 55 anni (range 20-65). La metà dei pazienti era in terapia immunosoppressiva con ciclosporina, la restante metà con tacrolimus; il 39% era in terapia di associazione con ciclosporina/tacrolimus e micofenolato mofetil. Il 70% dei



pazienti non assumeva alcol prima e dopo il trapianto; il 30% aveva un consumo alcolico compreso tra 10 e 30 g/die.

L'analisi dei sieri a 12 mesi dal trapianto ha documentato la presenza di una prevalenza pari a 11% per IgG specifiche anti-addotto albumina-MDA, 8% per IgG specifiche anti-addotto albumina-lipoperossido e 34% per IgG specifiche anti-cardiolipina ossidata. Globalmente, la prevalenza di IgG specifiche dirette contro due o più proteine modificate dallo stress ossidativo è risultata pari a 11%. I titoli di IgG specifiche dirette contro ciascuna di tali proteine non sono risultati correlati con il grado di infiammazione e con lo stadio di fibrosi e nemmeno con i livelli degli enzimi di citolisi epatica. Tuttavia, la presenza di positività per IgG specifiche anti-addotto albumina-MDA (e per due o più proteine modificate dallo stress ossidativo) è risultata associata significativamente alla presenza di danno infiammatorio più severo (grading,  $p=0.03$ ) e alla presenza di fibrosi più avanzata (staging,  $p=0.02$ ), indicando come la presenza di stress ossidativo correli con un'augmentata severità dell'epatite C post-trapianto.

La prevalenza di autoanticorpi ANA  $\geq 1:160$  nel siero al 12° mese post-trapianto è risultata pari a 20%; il 4% dei pazienti presentava positività per gli anticorpi anti-LKM1.

La prevalenza di positività per IgG anti-CYP2E1 è risultata 41% nei sieri raccolti immediatamente prima del trapianto e 33% nei sieri al 12° mese post-trapianto. Circa il 75% dei sieri con reattività anti-CYP2E1 in ELISA non riconosceva la proteina ricombinante CYP2E1 anche in Western blots, indicando il coinvolgimento preferenziale di epitopi conformazionali nello sviluppo di reattività anti-CYP2E1.

In base alla presenza di reattività anti-CYP2E1 al trapianto e dopo 12 mesi i pazienti si dividevano in 4 gruppi: il 52% dei pazienti era negativo prima e dopo il trapianto, il 7% positivo solo prima del trapianto, il 15% positivo solo post-trapianto e il 26% persistentemente positivo. In questi ultimi, la prevalenza di grading  $\geq 9$  e di staging  $\geq 4$  alla biopsia epatica del 12° mese post-trapianto era significativamente superiore rispetto agli altri pazienti ( $p=0.001$  e  $p=0.03$ , rispettivamente). Inoltre, la presenza di positività persistente per anticorpi anti-CYP2E1 prima e dopo il trapianto si associava al riscontro alla biopsia a 12 mesi dal trapianto di un grading infiammatorio ( $p=0.001$ ) e staging di fibrosi ( $p=0.006$ ), oltre che a livelli di transaminasi ( $p=0.002$ ), significativamente superiori rispetto ai pazienti negativi prima e/o dopo il trapianto. Non era diversa nei due gruppi la prevalenza di positività per autoanticorpi ANA.

L'analisi mediante regressione logistica dei fattori di rischio potenzialmente associati allo sviluppo di grading istologico  $\geq 9$  ha dimostrato che le uniche variabili indipendenti significative all'analisi univariata e multivariata erano la presenza di positività persistente per anticorpi anti-CYP2E1 ( $p=0.002$ ; OR 30; 95% IC 3.4-267), il rigetto acuto ( $p=0.01$ ; OR 12; 95% IC 1.7-94) e l'età del donatore  $>50$  anni ( $p=0.02$ ; OR 9; 95% IC 1.4-69). Non erano significative all'analisi univariata età del ricevente, sesso del donatore e ricevente, tipo di immunosoppressione, uso dei boli di steroide, consumo di alcol, genotipo HCV e viremia HCV media nel primo anno post-trapianto.

Inoltre, considerata la significatività all'analisi univariata della presenza di reattività anti-CYP2E1 pre-trapianto, indipendentemente dalla positività di tali anticorpi post-trapianto, la reattività anti-CYP2E1 pre-trapianto è stata inclusa nell'analisi multivariata, che ha confermato che la presenza di anticorpi anti-CYP2E1 pre-trapianto ( $p=0.01$ ; OR 9; 95% IC 1.5-54), l'età del donatore  $>50$  anni ( $p=0.01$ ; OR 11; 95% IC 1.7-77), ed episodi di rigetto acuto ( $p=0.02$ ; OR 7; 95% IC 1.3-35) erano fattori di rischio significativi ed indipendenti per lo sviluppo di severa necroinfiammazione ad un anno dal trapianto.

Gli stessi fattori di rischio sono stati analizzati per lo sviluppo di fibrosi severa (staging  $\geq 4$ ) ad un anno dal trapianto: la presenza persistente di anticorpi anti-CYP2E1 al trapianto e dopo 12 mesi è risultata significativamente associata allo staging solo all'analisi univariata; all'analisi multivariata l'unico fattore di rischio indipendente è risultato il grading istologico ( $p=0.01$ ; OR 29; 95% IC 2.9-294).

L'analisi di Kaplan-Meier ha rivelato che la probabilità di sviluppo di recidiva epatitica con necroinfiammazione severa nel corso del follow-up era significativamente superiore (Log Rank test  $p=0.005$ , HR non corretto 3.4; 95% IC 1.4-8.5;  $p=0.008$ ) nei pazienti con persistente reattività anti-CYP2E1. I fattori di rischio indipendenti associati allo sviluppo di severa necroinfiammazione sono stati inclusi nell'analisi di Cox, che ha dimostrato che l'età del donatore  $>50$  anni (HR corretto 3.1; 95% IC 1.1-8.4;  $p=0.028$ ), gli episodi di rigetto acuto (HR corretto 2.9; 95% CI 1.1-7.6;  $p=0.026$ ) e la persistenza di anticorpi anti-CYP2E1 (HR corretto 3.5; 95%CI 1.3-8.9;  $p=0.01$ ) aumentavano significativamente il rischio di sviluppo di recidiva epatica post-trapianto con severa necroinfiammazione.

## **DISCUSSIONE**

Il nostro lavoro ha documentato come nei pazienti con recidiva di epatite C post-trapianto la presenza di positività anticorpale specifica per l'addotto albumina-malonidialdeide si associ a malattia più severa, sia in termini di infiammazione che di fibrosi, indicando come la presenza di stress ossidativo correli con un'aumentata severità dell'epatite C post-trapianto.

Il 41% dei pazienti è risultato positivo per gli anticorpi anti-CYP2E1 prima del trapianto, confermando il dato di prevalenza di tali autoanticorpi precedentemente da noi pubblicato su un'altra casistica di pazienti con epatite cronica C a differente grado di severità, non candidati a trapianto di fegato (47). La presenza di reattività anti-CYP2E1 si è dimostrata essere fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di epatite con grading istologico  $\geq 9$  ad un anno dal trapianto, e il riscontro di grading  $\geq 9$  al momento della prima dimostrazione istologica di recidiva di epatite C è riportato in letteratura come fattore altamente specifico e sensibile nel predire la rapida evoluzione verso la cirrosi (51).

Il nostro lavoro ha, inoltre, documentato una reattività anti-CYP2E1 persistente prima e dopo il trapianto nel 26% dei pazienti analizzati, anch'essa risultata fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di recidiva epatitica C con elevato grading istologico ad un anno dal trapianto. In aggiunta, in accordo con i dati di letteratura precedentemente pubblicati (52), anche nella nostra casistica l'attività infiammatoria istologica è risultata predittore indipendente della progressione della fibrosi epatica.

La reattività nei confronti del CYP2E1 amplia lo spettro delle reazioni autoimmuni associate al trapianto. Studi ulteriori su più ampie casistiche sono necessari per confermare se la persistenza di autoanticorpi anti-CYP2E1 e/o la presenza di tali anticorpi al trapianto possano essere utilizzati come predittori per l'identificazione di pazienti a rischio di malattia severa.

## BIBLIOGRAFIA

1. Berenguer M, Lopez-Labrador FX, Wright TL. Hepatitis C and liver transplantation. *J Hepatol* 2001; 35(5):666-678.
2. Wiesner RH, Sorrell M, Villamil F. Report of the first International Liver Transplantation Society expert panel consensus conference on liver transplantation and hepatitis C. *Liver Transpl* 2003; 9(11):S1-S9.
3. Gane E. The natural history and outcome of liver transplantation in hepatitis C virus-infected recipients. *Liver Transpl* 2003; 9(11):S28-S34.
4. Berenguer M, Prieto M, Rayon JM, Mora J, Pastor M, Ortiz V et al. Natural history of clinically compensated hepatitis C virus-related graft cirrhosis after liver transplantation. *Hepatology* 2000; 32(4 Pt 1):852-858.
5. Berenguer M, Prieto M, Palau A, Rayon JM, Carrasco D, Juan FS et al. Severe recurrent hepatitis C after liver retransplantation for hepatitis C virus-related graft cirrhosis. *Liver Transpl* 2003; 9(3):228-235.
6. Berenguer M. What determines the natural history of recurrent hepatitis C after liver transplantation? *J Hepatol* 2005; 42(4):448-456.
7. Charlton M, Seaberg E, Wiesner R, Everhart J, Zetterman R, Lake J et al. Predictors of patient and graft survival following liver transplantation for hepatitis C. *Hepatology* 1998; 28(3):823-830.
8. McCaughan GW, Zekry A. Mechanisms of HCV reinfection and allograft damage after liver transplantation. *J Hepatol* 2004; 40(3):368-374.
9. Pelletier SJ, Raymond DP, Crabtree TD, Berg CL, Iezzoni JC, Hahn YS et al. Hepatitis C-induced hepatic allograft injury is associated with a pretransplantation elevated viral replication rate. *Hepatology* 2000; 32(2):418-426.
10. Charlton M. Liver biopsy, viral kinetics, and the impact of viremia on severity of hepatitis C virus recurrence. *Liver Transpl* 2003; 9(11):S58-S62.
11. Berenguer M, Ferrell L, Watson J, Prieto M, Kim M, Rayon M et al. HCV-related fibrosis progression following liver transplantation: increase in recent years. *J Hepatol* 2000; 32(4):673-684.
12. Feray C, Gigou M, Samuel D, Paradis V, Mishiro S, Maertens G et al. Influence of the genotypes of hepatitis C virus on the severity of recurrent liver disease after liver transplantation. *Gastroenterology* 1995; 108(4):1088-1096.
13. Gigou M, Roque-Afonso AM, Falissard B, Penin F, Dussaix E, Feray C. Genetic clustering of hepatitis C virus strains and severity of recurrent hepatitis after liver transplantation. *J Virol* 2001; 75(23):11292-11297.
14. Burak KW, Kremers WK, Batts KP, Wiesner RH, Rosen CB, Razonable RR et al. Impact of cytomegalovirus infection, year of transplantation, and donor age on outcomes after liver transplantation for hepatitis C. *Liver Transpl* 2002; 8(4):362-369.
15. Berenguer M. Host and donor risk factors before and after liver transplantation that impact HCV recurrence. *Liver Transpl* 2003; 9(11):S44-S47.

16. Berenguer M, Prieto M, San Juan F, Rayon JM, Martinez F, Carrasco D et al. Contribution of donor age to the recent decrease in patient survival among HCV-infected liver transplant recipients. *Hepatology* 2002; 36(1):202-210.
17. Machicao VI, Bonatti H, Krishna M, Aqel BA, Lukens FJ, Nguyen JH et al. Donor age affects fibrosis progression and graft survival after liver transplantation for hepatitis C. *Transplantation* 2004; 77(1):84-92.
18. Russo MW, Galanko JA, Zacks SL, Beavers KL, Fried MW, Shrestha R. Impact of donor age and year of transplant on graft survival in liver transplant recipients with chronic hepatitis C. *Am J Transplant* 2004; 4(7):1133-1138.
19. Berenguer M, Lopez-Labrador FX, Greenberg HB, Wright TL. Hepatitis C virus and the host: An imbalance induced by immunosuppression? *Hepatology* 2000; 32(2):433-435.
20. Berenguer M. Outcome of posttransplantation hepatitis C virus disease--is it the host, the virus, or how we modify the host and/or the virus? *Liver Transpl* 2002; 8(10):889-891.
21. Papatheodoridis GV, Davies S, Dhillon AP, Teixeira R, Goulis J, Davidson B et al. The role of different immunosuppression in the long-term histological outcome of HCV reinfection after liver transplantation for HCV cirrhosis. *Transplantation* 2001; 72(3):412-418.
22. Lake JR. The role of immunosuppression in recurrence of hepatitis C. *Liver Transpl* 2003; 9(11):S63-S66.
23. McCaughan GW, Zekry A. Impact of immunosuppression on immunopathogenesis of liver damage in hepatitis C virus-infected recipients following liver transplantation. *Liver Transpl* 2003; 9(11):S21-S27.
24. Forman LM, Lewis JD, Berlin JA, Feldman HI, Lucey MR. The association between hepatitis C infection and survival after orthotopic liver transplantation. *Gastroenterology* 2002; 122(4):889-896.
25. Lake JR, Shorr JS, Steffen BJ, Chu AH, Gordon RD, Wiesner RH. Differential effects of donor age in liver transplant recipients infected with hepatitis B, hepatitis C and without viral hepatitis. *Am J Transplant* 2005; 5(3):549-557.
26. De Maria N, Colantoni A, Fagioli S, Liu GJ, Rogers BK, Farinati F et al. Association between reactive oxygen species and disease activity in chronic hepatitis C. *Free Radic Biol Med* 1996; 21(3):291-295.
27. Farinati F, Cardin R, De Maria N, Della LG, Marafin C, Lecis E et al. Iron storage, lipid peroxidation and glutathione turnover in chronic anti-HCV positive hepatitis. *J Hepatol* 1995; 22(4):449-456.
28. Kageyama F, Kobayashi Y, Kawasaki T, Toyokuni S, Uchida K, Nakamura H. Successful interferon therapy reverses enhanced hepatic iron accumulation and lipid peroxidation in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2000; 95(4):1041-1050.
29. Paradis V, Mathurin P, Kollinger M, Imbert-Bismut F, Charlotte F, Piton A et al. In situ detection of lipid peroxidation in chronic hepatitis C: correlation with pathological features. *J Clin Pathol* 1997; 50(5):401-406.
30. Burke A, FitzGerald GA, Lucey MR. A prospective analysis of oxidative stress and liver transplantation. *Transplantation* 2002; 74(2):217-221.

31. Vergani D, Mieli-Vergani G. Autoimmunity after liver transplantation. *Hepatology* 2002; 36(2):271-276.
32. Garcia-Criado FJ, Palma-Vargas JM, Valdunciel-Garcia JJ, Toledo AH, Misawa K, Gomez-Alonso A et al. Tacrolimus (FK506) down-regulates free radical tissue levels, serum cytokines, and neutrophil infiltration after severe liver ischemia. *Transplantation* 1997; 64(4):594-598.
33. Wolf A, Trendelenburg CF, Diez-Fernandez C, Prieto P, Houy S, Trommer WE et al. Cyclosporine A-induced oxidative stress in rat hepatocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 1997; 280(3):1328-1334.
34. Bedossa P, Houghlum K, Trautwein C, Holstege A, Chojkier M. Stimulation of collagen alpha 1(I) gene expression is associated with lipid peroxidation in hepatocellular injury: a link to tissue fibrosis? *Hepatology* 1994; 19(5):1262-1271.
35. Parola M, Pinzani M, Casini A, Albano E, Poli G, Gentilini A et al. Stimulation of lipid peroxidation or 4-hydroxynonenal treatment increases procollagen alpha 1 (I) gene expression in human liver fat-storing cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 194(3):1044-1050.
36. Parola M, Pinzani M, Casini A, Leonarduzzi G, Marra F, Caligiuri A et al. Induction of procollagen type I gene expression and synthesis in human hepatic stellate cells by 4-hydroxy-2,3-nonenal and other 4-hydroxy-2,3-alkenals is related to their molecular structure. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 222(2):261-264.
37. Zamara E, Novo E, Marra F, Gentilini A, Romanelli RG, Caligiuri A et al. 4-Hydroxynonenal as a selective pro-fibrogenic stimulus for activated human hepatic stellate cells. *J Hepatol* 2004; 40(1):60-68.
38. Rigamonti C, Mottaran E, Reale E, Rolla R, Cipriani V, Capelli F et al. Moderate alcohol consumption increases oxidative stress in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003; 38(1):42-49.
39. Albano E, Mottaran E, Vidali M, Reale E, Saksena S, Occhino G et al. Immune response towards lipid peroxidation products as a predictor of progression of non-alcoholic fatty liver disease to advanced fibrosis. *Gut* 2005; 54(7):987-993.
40. Stewart SF, Vidali M, Day CP, Albano E, Jones DE. Oxidative stress as a trigger for cellular immune responses in patients with alcoholic liver disease. *Hepatology* 2004; 39(1):197-203.
41. Vergani D, Mieli-Vergani G. The impact of autoimmunity on hepatocytes. *Semin Liver Dis* 2007; 27(2):140-151.
42. Lytton SD, Helander A, Zhang-Gouillon ZQ, Stokkeland K, Bordone R, Arico S et al. Autoantibodies against cytochromes P-450E1 and P-450A in alcoholics. *Mol Pharmacol* 1999; 55(2):223-233.
43. Lytton SD, Berg U, Nemeth A, Ingelman-Sundberg M. Autoantibodies against cytochrome P450s in sera of children treated with immunosuppressive drugs. *Clin Exp Immunol* 2002; 127(2):293-302.
44. Strassburg CP, Manns MP. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis* 2002; 22(4):339-352.

45. Strassburg CP, Vogel A, Manns MP. Autoimmunity and hepatitis C. *Autoimmun Rev* 2003; 2(6):322-331.
46. Dalekos GN, Obermayer-Straub P, Bartels M, Maeda T, Kayser A, Braun S et al. Cytochrome P450 2A6: a new hepatic autoantigen in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Hepatol* 2003; 39(5):800-806.
47. Vidali M, Occhino G, Ivaldi A, Serino R, Moia S, Alchera E et al. Detection of auto-antibodies against cytochrome P4502E1 (CYP2E1) in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2006.
48. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995; 22(6):696-699.
49. Banff schema for grading liver allograft rejection: an international consensus document. *Hepatology* 1997; 25(3):658-663.
50. Demetris AJ, Adeyi O, Bellamy CO, Clouston A, Charlotte F, Czaja A et al. Liver biopsy interpretation for causes of late liver allograft dysfunction. *Hepatology* 2006; 44(2):489-501.
51. Guido M, Fagioli S, Tessari G, Burra P, Leandro G, Boccagni P et al. Histology predicts cirrhotic evolution of post transplant hepatitis C. *Gut* 2002; 50(5):697-700.
52. Sreekumar R, Gonzalez-Koch A, Maor-Kendler Y, Batts K, Moreno-Luna L, Poterucha J et al. Early identification of recipients with progressive histologic recurrence of hepatitis C after liver transplantation. *Hepatology* 2000; 32(5):1125-1130.

## **ATTIVITÀ FORMATIVA**

Nel corso del IV anno di Dottorato l'attività di ricerca è stata proseguita nell'ambito del Progetto di Ricerca "Epatite C nel modello del trapianto umano: ruolo dei cofattori nella fibrogenesi e progressione del danno epatico", con raccolta di dati e ricerca sia in ambito clinico che laboratoristico.

Inoltre, l'attività scientifica, è consistita nella partecipazione a corsi e aggiornamento bibliografico continuo in epatologia (Medline e Journal Club), alla partecipazione attiva a congressi internazionali e alla stesura di lavori scientifici, in particolare nell'ambito della recidiva di epatite C post-trapianto e alla nuova modalità di monitoraggio dei pazienti mediante elastografia transizionale.



## SEZIONE 2

### CORSI FREQUENTATI

#### **I ANNO DI CORSO (Anno accademico 2004/2005)**

1. AASLD Postgraduate course – Boston October 30-31 2004
2. Convegno Focus in Ematologia “LE GAMMOPATIE MONOCLINALI: DAL RISCONTRO OCCASIONALE ALLE NUOVE FRONTIERE TERAPEUTICHE” – Novara 13 Novembre 2004
3. Corso “AGGIORNAMENTO SULL’EPATITE CRONICA DA HBV” – Torino 19 Novembre 2004
4. Corso “DISCUTENDO DI TERAPIA DEI LINFOMI” – Novara 20 Novembre 2004
5. Liver Club “Amiloidosi” – Milano, 21 Dicembre 2004
6. HEPATOLOGY 2005 COURSE - London January 23-25 2005
7. Liver Club “Morbo di Wilson” – Milano, 12 Aprile 2005
8. II BAVENO POSTGRADUATE COURSE: METHODOLOGY OF DIAGNOSIS AND TREATMENT IN PORTAL HYPERTENSION – Baveno 27 Aprile 2005
9. Liver Club “Flares epatitici nel post-trapianto” – Milano, 3 Maggio 2005
10. Gastro-Day – Milano, 10 Maggio 2005
11. Corso Interattivo “GESTIONE DELLA STENOSI BILIARE DOPO TRAPIANTO DI FEGATO” – Milano 9 Giugno 2005
12. AISF Consensus Conference “MANAGEMENT DELLE IPERTRANSAMINASEMIE CRONICHE ASINTOMATICHE NON-VIRUS, NON-ALCOL CORRELATE” – Roma 30 Giugno 2005
13. Liver Club “HCV 3a: un tipo difficile” - Milano 13 Settembre 2005

#### **II ANNO DI CORSO (Anno accademico 2005/2006)**

1. CORSO “ULTRASUONI NEL CASTELLO DI GARGONZA” – Gargonza 4-6 Ottobre 2005
2. Seminario “HCV-related steatosis: pathogenic mechanisms and clinical implications” – Novara, 23 novembre 2005
3. Course 5 EASL School of Hepatology “HEPATITIS B AND C” – Milan 9-10 December 2005
4. Liver Club “Epatite acuta ed emolisi” – Milano, 13 Dicembre 2005
5. Liver Club “Deficit di alfa-1-antitripsina” – Milano, 7 Febbraio 2006
6. Corso “Ruolo della transglutaminasi nel morbo celiaco” – Milano, 17 Marzo 2006
7. Seminario “The natural course of preclinical type 1 diabetes” – Novara, 20 marzo 2006

8. Seminario "L'epatite autoimmune" – Novara, 18 maggio 2006
9. Liver Club "Distiroidismo ed epatopatia" – Milano, 16 Maggio 2006
10. Seminario "TOWARDS INDIVIDUALIZED MANAGEMENT OF THE PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS" – Milano 26-27 Maggio 2006
11. Liver Club "Overlap PBC/PSC" – Milano 6 Giugno 2006
12. Corso "MALATTIE DEL FEGATO E DELLE VIE BILIARI: UPDATE" – Orta San Giulio 17 Giugno 2006
13. Course 6 EASL School of Hepatology "CLINICAL HEPATOLOGY" – Dublin 23-24 June 2006
14. Corso "MALATTIE DEL FEGATO E DELLE VIE BILIARI: UPDATE" – Orta San Giulio 2 Settembre 2006
15. Liver Club "Meccanismi di anemia in pazienti in terapia antivirale" – Milano 18 Settembre 2006

### **III ANNO DI CORSO (Anno accademico 2006/2007)**

1. CORSO "ULTRASUONI NEL CASTELLO DI GARGONZA" – Gargonza 5-7 Ottobre 2006
2. AASLD-ILTS Transplant course "Liver Transplantation in the 21th century: clinical, pathologic and radiologic correlation in liver transplantation" – Boston October 27 2006
3. AASLD Postgraduate course "Mechanisms of liver injury in emerging therapeutics" – Boston October 27-28 2006
4. Liver Club "Quando l'ematologo incontra il virus B" – Milano 16 Gennaio 2007
5. Liver Club "Virus C, cirrosi , linfoma a confronto" – Milano 16 Gennaio 2007
6. AISF Corso pre-meeting – Roma 21 Febbraio 2007
7. Liver Club "Diagnosi di colangiocarcinoma" – Milano, 20 Marzo 2007
8. EASL Postgraduate course "The microscope at the bedside" – Barcelona April 11-12 2007
9. Liver Club "Quando le crioglobuline vanno in dialisi?" – Milano, 18 Settembre 2007

### **IV ANNO DI CORSO (Anno accademico 2007/2008)**

1. AISF – ELITA Pre-Meeting Course – Bergamo 10 Ottobre 2007
2. AASLD Postgraduate course – Boston November 2-3 2007
3. Liver Club "HCV, genotipo 4: dalla terapia..... al trapianto..... alla terapia" – Milano 13 Novembre 2007
4. Liver Club "...non solo virus..." – Milano 15 Gennaio 2008

5. Pre-meeting Course "New diagnostic and interventional techniques in Gastroenterology" – Padova 24 Gennaio 2008
6. 10° Corso Pre-Meeting AISF "MANAGEMENT OF HBV-RELATED LIVER-DISEASE" – Roma 20 Febbraio 2008
7. 1<sup>st</sup> AISF POST-GRADUATE COURSE "BASIC LIVER ULTRASONOGRAPHY" – Roma 23 Febbraio 2008
8. Liver Club "Alcolismo: non solo cirrosi epatica" – Milano 4 Marzo 2008
9. IV Corso Nazionale di Aggiornamento "Ecografia in gastroenterologia" – Piacenza 8 Maggio 2008

## **CONGRESSI FREQUENTATI**

### **I ANNO DI CORSO (Anno accademico 2004/2005)**

1. AASLD ANNUAL MEETING 2004 – Boston October 31- November 3 2004
2. AISF Single Topic “FOCUS ON PROPHYLAXIS AND THERAPY ON HEPATITIS B IN IMMUNO-COMPROMISED PATIENTS – Torino 13-14 Maggio 2005

### **II ANNO DI CORSO (Anno accademico 2005/2006)**

1. Riunione Monotematica AISF - 2005 “TERAPIA DELLA CIRROSI EPATICA” – Napoli 26-28 Ottobre 2005
2. 2006 Joint International Congress of ILTS, ELITA & LICAGE – Milan 3-6 May 2006
3. 2nd International Conference “MOVING FORWARD WITH HEPATITIS C. 2nd INTERNATIONAL CONFERENCE 2006” – Dublin 21-23 June 2006

### **III ANNO DI CORSO (Anno accademico 2006/2007)**

1. AASLD ANNUAL MEETING 2006 – Boston 28-31 October 2006
2. AISF ANNUAL MEETING 2007 – Roma 21-23 Febbraio 2007
3. 42° ANNUAL MEETING OF THE EUROPEAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF THE LIVER – Barcelona April 12-15 2007
4. The ILTS 13<sup>th</sup> ANNUAL INTERNATIONAL CONGRESS – Rio de Janeiro June 20-23 2007

### **IV ANNO DI CORSO (Anno accademico 2007/2008)**

1. Riunione Monotematica AISF 2007 “IL TRAPIANTO DI FEGATO”– Bergamo 11-12 Ottobre 2007
2. AASLD ANNUAL MEETING 2007 – Boston November 3-6 2007
3. AISF ANNUAL MEETING 2008 – Roma 21-22 Febbraio 2008
4. 43° ANNUAL MEETING OF THE EUROPEAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF THE LIVER – Milan April 23-27 2008

## COMUNICAZIONI A CONGRESSI

### I ANNO DI CORSO (Anno accademico 2004/2005)

1. **Rigamonti C**, Shand L, Feudjo M, Bunn C, Denton C, Burroughs AK. Clinical features and prognosis of primary biliary cirrhosis associated with systemic sclerosis. *POSTER*  
AASLD ANNUAL MEETING 2004 – Boston October 31- November 3 2004
2. Sartori M, Andorno A, Capelli F, **Rigamonti C**, Giacalone A, Benzoni E, Uzzau A, Pirisi M. A model to predict survival in patients with cirrhosis and hepatocellular carcinoma treated with resective surgery. *POSTER*  
AASLD ANNUAL MEETING 2004 – Boston October 31- November 3 2004
3. Sartori M, Andorno A, **Rigamonti C**, Capelli F, Bozzola C, Pergolini P, Rolla R, Boldorini R, Bellomo G, Pirisi M. Heterozygous beta globin gene mutations are associated with more severe liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *POSTER*  
AASLD ANNUAL MEETING 2004 – Boston October 31- November 3 2004

### II ANNO DI CORSO (Anno accademico 2005/2006)

1. **Rigamonti C**, Donato MF, Fraquelli M, Agnelli F, Ronchi G, Rossi G, Fassati LR, Colombo M. Evaluation of liver graft fibrosis by transient elastography (TE). *POSTER*  
2006 Joint International Congress of ILTS, ELITA & LICAGE – Milan 3-6 May 2006
2. Donato MF, **Rigamonti C**, Agnelli F, Rossi G, Maggi U, Viganò M, Arosio E, Maggioni M, Colombo M, Fassati LR. Protocol liver biopsies to evaluate severity of recurrent HCV hepatitis: a recent monocentric experience. *POSTER*  
2006 Joint International Congress of ILTS, ELITA & LICAGE – Milan 3-6 May 2006
3. Carmignani L, Acquati P, Donato MF, Agnelli F, **Rigamonti C**, Rossi G, Rocco F, Fassati LR. Sexuality and erectile dysfunction in patients who have undergone liver transplant. *POSTER*  
2006 Joint International Congress of ILTS, ELITA & LICAGE – Milan 3-6 May 2006
4. Donato MF, Agnelli F, Viganò M, **Rigamonti C**, Rossi G, Fassati LR, Colombo M. Pegylated (PEG-IFN) versus standard interferon- $\alpha$  (IFN) in the treatment of genotype 1b hepatitis C recurring after liver transplantation. *POSTER*  
2006 Joint International Congress of ILTS, ELITA & LICAGE – Milan 3-6 May 2006
5. Cantù P, Donato MF, Rossi G, Forzenigo L, Piodi L, Agnelli F, **Rigamonti C**, Tenca A, Fassati LR, Penagini R. Stent-trial in anastomotic biliary stricture after liver transplantation: does it help patients' management? *POSTER*  
2006 Joint International Congress of ILTS, ELITA & LICAGE – Milan 3-6 May 2006

6. Donato MF, Arosio E, Monti V, Berra M, Agnelli F, **Rigamonti C**, Rossi G, Fassati LR, Colombo M. The changes in serum antinuclear antibody (ANA) correlated with severity of hepatitis C recurrence after transplantation. *POSTER*  
2006 Joint International Congress of ILTS, ELITA & LICAGE – Milan 3-6 May 2006

### **III ANNO DI CORSO (Anno accademico 2006/2007)**

1. **Rigamonti C**, Donato MF, Fraquelli M, Agnelli F, Ronchi G, Rossi G, Colombo M. Transient elastography (TE, Fibroscan®) in the evaluation of recurrent disease after liver transplantation (LT). *ORALE*  
AASLD ANNUAL MEETING 2006 – Boston 28-31 October 2006
2. Fraquelli M, **Rigamonti C**, Conte D, Casazza G, Donato MF, Ronchi G, Rossi G, Colombo M. Reproducibility of transient elastography (TE) in assessing hepatic fibrosis. *POSTER*  
AASLD ANNUAL MEETING 2006 – Boston 28-31 October 2006
3. Donato MF, Arosio E, Monti V, Agnelli F, **Rigamonti C**, Berra M, Colombo M. Prevalence of serum antinuclear antibodies (ANA) after liver transplant in HCV and HBV recipients is associated with different clinical profiles. *POSTER*  
AASLD ANNUAL MEETING 2006 – Boston 28-31 October 2006
4. **Rigamonti C**, Donato MF, Vidali M, Agnelli F, Serino R, Occhino G, Ivaldi A, Arosio E, Monti V, Rossi G, Colombo M, Albano E. Serum autoantibodies against cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) predict severity of liver graft hepatitis C recurrence. *ORALE*  
AISF ANNUAL MEETING 2007 – Roma 21-23 Febbraio 2007
5. Donato MF, Agnelli F, Viganò M, **Rigamonti C**, Rossi G, Colombo M. Efficacy and safety of Pegylated Interferon plus Ribavirin in patients with hepatitis C recurrence after liver transplantation: a single centre experience. *POSTER*  
AISF ANNUAL MEETING 2007 – Roma 21-23 Febbraio 2007
6. **Rigamonti C**, Donato MF, Vidali M, Serino R, Occhino G, Ivaldi A, Agnelli F, Arosio E, Rossi G, Colombo M, Albano E. Detection of autoantibodies against cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) in patients with recurrent hepatitis C. *POSTER*  
42° ANNUAL MEETING OF THE EUROPEAN ASSOCIATION FOR THE STUDY OF THE LIVER – Barcelona April 12-15 2007
7. **Rigamonti C**, Donato MF, Vidali M, Agnelli F, Serino R, Occhino G, Ivaldi A, Arosio E, Monti V, Rossi G, Colombo M, Albano E. Serum autoantibodies against cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) predict severity of liver graft hepatitis C recurrence. *ORALE*  
The ILTS 13<sup>th</sup> ANNUAL INTERNATIONAL CONGRESS – Rio de Janeiro June 20-23 2007

8. Donato MF, Arosio E, Monti V, Agnelli F, **Rigamonti C**, Berra M, Viganò M, Rossi G, Colombo M. Late graft dysfunction (GD) in HBV recurrence-free recipients is associated with serum antinuclear antibodies (ANA) reactivity. *POSTER*  
The ILTS 13<sup>th</sup> ANNUAL INTERNATIONAL CONGRESS – Rio de Janeiro June 20-23 2007
9. Agnelli F, Viganò M, **Rigamonti C**, Rossi G, Colombo M, Donato MF. Efficacy and safety of Pegylated Interferon plus Ribavirin in patients with hepatitis C recurrence after liver transplantation: a single centre experience. *POSTER*  
The ILTS 13<sup>th</sup> ANNUAL INTERNATIONAL CONGRESS – Rio de Janeiro June 20-23 2007

#### **IV ANNO DI CORSO (Anno accademico 2007/2008)**

1. **Rigamonti C**, Donato MF, Agnelli F, Fraquelli M, Rossi G, Colombo M. Transient elastography (TE) is an accurate tool in monitoring liver-transplanted (LT) patients with recurrent hepatitis C. *ORALE*  
Riunione Monotematica AISF 2007– Bergamo 11-12 Ottobre 2007
2. **Rigamonti C**, Donato MF, Agnelli F, Fraquelli M, Rossi G, Colombo M. Transient elastography (TE) is an accurate tool in monitoring liver transplanted (LT) patients with recurrent hepatitis C. *POSTER*  
AASLD ANNUAL MEETING 2007 – Boston 3-6 November 2007
3. **Rigamonti C**, Floreani A, Variola A, Casazza G, Burroughs AK, Patch D. Primary biliary cirrhosis (PBC) with initial normal bilirubin concentration: treatment with ursodeoxycholic acid (UDCA) does not affect liver-related survival. *POSTER*  
AASLD ANNUAL MEETING 2007 – Boston 3-6 November 2007
4. Fraquelli M, **Rigamonti C**, Casazza G, Donato MF, Conte D, Rumi MG, Lampertico P, Ronchi G, Colombo M. Low body mass index (BMI) predicts discordance between transient elastography (TE) and liver biopsy (LB) assessment of liver fibrosis. *POSTER*  
AASLD ANNUAL MEETING 2007 – Boston 3-6 November 2007
5. Fraquelli M, Cassinerio E, Volpato E, **Rigamonti C**, Cappellini MD, Conte D, Colombo M. Liver fibrosis in adult thalassemia patients assessed by transient elastography. *ORALE*  
AISF ANNUAL MEETING 2008 – Roma 21-22 Febbraio 2008
6. Donato MF, Arosio E, Agnelli F, **Rigamonti C**, Viganò M, Caccamo L, P. Lampertico P, Rossi G, Colombo M. Graft dysfunction (GD) in HBV recurrence-free recipients is associated with serum autoantibodies reactivity. *POSTER*  
43° ANNUAL MEETING OF THE EASL – Milan April 23-27 2008

7. Fraquelli M, **Rigamonti C**, Conte D, Casazza G, Donato MF, Rumi MG, Lampertico P, Ronchi G, Colombo M. Independent predictors of discordance between transient elastography (TE) and liver biopsy (LB). *POSTER*  
43° ANNUAL MEETING OF THE EASL – Milan April 23-27 2008
  
8. **Rigamonti C**, Agnelli F, Fraquelli M, Arosio E, Reggiani P, Rossi G, Colombo M, Donato MF. AST-to-platelet ratio index (APRI) does not predict liver fibrosis in liver transplanted (LT) patients with recurrent hepatitis C. *POSTER*  
THE ILTS 14<sup>th</sup> ANNUAL INTERNATIONAL CONGRESS – Paris July 9-12 2008
  
9. **Rigamonti C**, Fraquelli M, Agnelli F, Reggiani P, Rossi G, Colombo M, Donato MF. Transient elastography (TE) detects presence of graft damage in non-HCV infected liver transplanted (LT) patients. *POSTER*  
THE ILTS 14<sup>th</sup> ANNUAL INTERNATIONAL CONGRESS – Paris July 9-12 2008



## ARTICOLI SCIENTIFICI PUBBLICATI NEL CORSO DEL DOTTORATO

1. Chan CW, Gunsar F, Feudjo M, Rigamonti C, Vlachogiannakos J, Carpenter JR, Burroughs AK. Long term ursodeoxycholic acid therapy for primary biliary cirrhosis: a follow-up to 12 years. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 217-26.
2. Rigamonti C, Andorno S, Maduli E, Capelli F, Boldorini R, Sartori M. Gender and liver fibrosis in chronic hepatitis: the role of iron status. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 1445–1451.
3. Chan CW, Carpenter JR, Rigamonti C, Gunsar F, Burroughs AK. Survival following the development of ascites and/or peripheral oedema in primary biliary cirrhosis: a staged prognostic model. *Scand J Gastro* 2005; 40: 1081-89.
4. Vay D, Rigamonti C, Vidali M, Mottaran E, Alchera E, Occhino G, Sartori M, Albano E. Anti-phospholipid antibodies associated with alcoholic liver disease target oxidized phosphatidylserine on apoptotic cell plasma membranes. *J Hepatol*. 2006; 44: 183-89.
5. Rigamonti C, Shand LM, Feudjo M, Bunn CC, Black CM, Denton CP, Burroughs AK. Clinical features and prognosis of primary biliary cirrhosis associated with systemic sclerosis. *Gut* 2006; 55: 388-94.
6. Vidali M, Occhino G, Ivaldi A, Serino R, Moia S, Alchera E, Carini R, Rigamonti C, Sartori M, Albano E. Detection of auto-antibodies against cytochrome P4502E1 (CYP2E1) in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2007; 46: 605-12.
7. Sartori M, Andorno S, Pagliarulo M, Rigamonti C, Balzola C, Pergolini P, Rolla R, Suno A, Boldorini R, Bellomo G, Albano E. Heterozygous beta-globin gene mutations as a risk factor for iron accumulation and liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Gut*. 2007; 56: 693-98.
8. Rigamonti C, Fraquelli M. Do not trivialize the Fibroscan® examination, value its accuracy. *J Hepatol* 2007; 46: 1149.
9. Fraquelli M, Rigamonti C, Casazza G, Conte D, Donato MF, Ronchi G, Colombo M. Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Gut* 2007; 56: 968-73.
10. Fraquelli M, Rigamonti C. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography: what is hidden behind misleading results. *Hepatology* 2007; 46: 282.
11. Rigamonti C, Fraquelli M, Donato MF, Colombo M. Liver biopsy techniques: automated aspiration needles provide adequate tissue samples. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2608-9.

12. Vidali M, Occhino G, Ivaldi A, Rigamonti C, Sartori M, Albano E. The combination of oxidative stress and steatosis is a risk factor for fibrosis in alcohol drinking patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 147-53.
13. Rigamonti C, Donato MF, Fraquelli M, Agnelli F, Ronchi G, Casazza G, Rossi G, Colombo M. Transient elastography predicts fibrosis progression in patients with recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Gut* 2008; 57: 821-27.
14. Donato MF, Agnelli F, Rigamonti C, Arosio E, Colombo M. Might rapid virological response be used as a stopping rule in liver transplant recipients treated with pegylated interferon plus ribavirin? *Liver Transpl* 2008; 14: 1383-84.

## DICHIARAZIONE SOSTITUTIVA DI CERTIFICAZIONE

(Art.2 della Legge 4 gennaio 1968, n. 15, come modificato dall'art.3 punto 10 della Legge 15 maggio 1997, n.127 e dal regolamento attuativo degli artt. 1 – 2 – 3 della Legge n. 127)

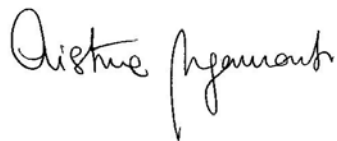
La sottoscritta Cristina Rigamonti, nata a Novara il 12/04/74, residente a Novara in Via P. Custodi 8, consapevole delle responsabilità e delle pene stabilite dalla legge per false attestazioni e mendaci dichiarazioni, sotto la sua personale responsabilità (art. 26 L. 4.1.1968, n.15).

DICHIARA

che il contenuto della presente Relazione corrisponde a verità e si obbliga a provarlo nei termini e con le modalità di legge.

In Fede

Dr Cristina Rigamonti



Novara, 29 Settembre 2008