

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Scuola di Medicina e Chirurgia

Corso di Laurea Magistrale in Medicina e Chirurgia

Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Oncologiche e Gastroenterologiche

U.O.C. Gastroenterologia

Direttore: Prof.ssa Patrizia Burra

TESI DI LAUREA

L'IMPATTO DELL'INFEZIONE DA CITOMEGALOVIRUS SULLA RIATTIVAZIONE DI MALATTIA IN PAZIENTI AFFETTI DA RETTOCOLITE ULCEROSA MODERATA- SEVERA: UNO STUDIO RETROSPETTIVO MONOCENTRICO

Relatore: Prof.ssa Fabiana Zingone

Correlatore: Dott.ssa Miriana Zanconato

Laureanda: Camilla Cavagna

Matricola: 1209004

Anno accademico 2023/2024

INDICE

ABSTRACT	1
1. INTRODUZIONE	5
1.1. LE MALATTIE INFIAMMATORIE CRONICHE INTESTINALI	5
1.1.1. <i>Definizione e epidemiologia</i>	5
1.1.2. <i>Fattori di rischio e eziopatogenesi</i>	5
1.2. LA RETTOCOLITE ULCEROSA	10
1.2.1. <i>Definizione e eziologia</i>	10
1.2.2. <i>Sintomi e score clinici ed endoscopici</i>	12
1.2.3. <i>Terapia medica</i>	17
1.2.4. <i>Terapia chirurgica</i>	20
1.3. L'INFEZIONE DA CITOMEGALOVIRUS NELLA RETTOCOLITE ULCEROSA	22
1.3.1. <i>Epidemiologia</i>	22
1.3.2. <i>Il ruolo del CMV nella rettocolite ulcerosa</i>	22
1.3.3. <i>L'elusione della risposta immunitaria da parte del citomegalovirus</i>	26
1.3.4. <i>I metodi per la rilevazione del CMV</i>	26
1.3.5. <i>La colite da CMV nei soggetti affetti da rettocolite ulcerosa</i>	30
1.3.6. <i>Il CMV e la steroido-resistenza</i>	32
1.3.7. <i>Indicazioni alla terapia antivirale</i>	32
2. SCOPO DELLO STUDIO	37
3. MATERIALI E METODI	39
3.1 DISEGNO DELLO STUDIO.....	39
3.2 DATABASE	39
3.3 ANALISI STATISTICA.....	41
4. RISULTATI	43
4.1 LA COORTE	43
4.2. LA POSITIVITÀ AL CMV	43
4.3. LA VALUTAZIONE CLINICA AL MOMENTO DELLA RIATTIVAZIONE	46
4.4. LA TERAPIA STEROIDEA E ANTIVIRALE.....	49
4.5. LA RIVALUTAZIONE A DISTANZA DALLA RIACUTIZZAZIONE	50

5. DISCUSSIONE	53
6. CONCLUSIONI.....	57
7. BIBLIOGRAFIA	59

ABSTRACT

Introduzione: L'infezione da citomegalovirus (CMV) colpisce frequentemente i pazienti con colite ulcerosa (UC) ed è stata associata ad episodi di riacutizzazione della malattia e ad un aumento della severità di malattia. Il nostro studio mirava a valutare le differenze cliniche e bioumorali tra i pazienti con UC che hanno presentato una riacutizzazione di malattia moderata-severa risultati positivi al CMV e quelli senza infezione da CMV.

Metodi: Abbiamo incluso retrospettivamente tutti i pazienti con UC che sono stati seguiti per almeno un anno dopo la diagnosi presso l'Unità di Gastroenterologia dell'Azienda Ospedale Università di Padova e che sono stati studiati per l'infezione da CMV al momento di un episodio di riattivazione moderata/grave (pMayo ≥ 5 e/o calprotectina fecale ≥ 250 e/o Mayo endoscopico ≥ 2) dal gennaio 2016 all'ottobre 2023. I pazienti sono stati considerati CMV-positivi se il virus è stato rilevato a partire dalle biopsie coliche utilizzando l'ematossilina ed eosina (H&E), l'immunoistochimica (IHC) e la PCR sul tessuto (almeno 1 corpo di inclusione intranucleare del CMV nelle sezioni colorate con H&E e/o la rilevazione dell'antigene precoce del CMV con colorazioni di IHC, e/o se è stata rilevata una carica virale tissutale positiva mediante PCR qualitativa su biopsie coliche). Le caratteristiche demografiche e cliniche, la calprotectina fecale e le terapie precedenti e in corso per l'UC sono state confrontate tra i pazienti CMV-positivi e quelli risultati negativi al test. Infine, è stata riportata la terapia anti-CMV somministrata. Le differenze tra i due gruppi di studio sono state valutate utilizzando il t-test per campioni indipendenti, mentre le differenze nell'analisi categorica sono state analizzate utilizzando il test del Chi-quadrato. Un valore $p < 0,05$ è stato considerato significativo. Per l'analisi statistica è stato utilizzato STATA11.

Risultati: Abbiamo incluso retrospettivamente 203 pazienti affetti da UC con malattia moderata-severa (39.95% femmine, età media della popolazione $50,8 \pm 16,7$ anni, tempo medio dalla diagnosi alla riacutizzazione esaminata $10,9 \pm 9,4$ anni). Trentadue pazienti (15.76%) sono risultati positivi per l'infezione da CMV; non sono state osservate differenze di genere, età e tempo dalla diagnosi tra i pazienti CMV-positivi e negativi. Il DNA quantitativo del CMV nel siero è stato testato in 26 pazienti e in 17 pazienti (65.38%) sono state rilevate > 1000 copie/ml. Circa la metà dei pazienti era in trattamento con terapia

immunomodulatoria durante la recidiva della malattia, con una distribuzione simile tra pazienti CMV-positivi e negativi ($p = 0.863$). Il 93.75% dei pazienti CMV-positivi aveva diarrea rispetto al 74.85% dei pazienti senza infezione da CMV ($p = 0.018$), e il dolore addominale era presente nel 71.88% dei pazienti CMV-positivi rispetto al 41.52% dei pazienti CMV-negativi ($p=0.002$). Al contrario, sintomi come febbre e rettorragia avevano tassi simili nei due gruppi ($p=0.678$ e $p=0.126$ rispettivamente). I livelli medi di calprotectina fecale erano simili tra i due gruppi ($p = 0.108$). Il 93.75% dei pazienti CMV-positivi ha richiesto l'ospedalizzazione rispetto al 31.36% dei pazienti CMV-negativi ($p\leq 0.001$). I pazienti CMV-positivi sono stati trattati con steroidi per via orale o endovenosa e più frequentemente hanno cambiato terapia a favore di un biologico per l'UC rispetto ai pazienti CMV-negativi ($p=0.023$). Parallelamente, 18/32 pazienti CMV-positivi sono stati trattati con Ganciclovir per 3-5 giorni, e 25/32 sono stati trattati con Valganciclovir per altre 2-6 settimane.

Conclusioni: I pazienti con UC positivi al CMV hanno richiesto terapia steroidea sistemica e ospedalizzazione più frequentemente rispetto ai pazienti non infetti, suggerendo una necessità di trattamento della malattia più intensivo. Inoltre, sintomi come il dolore addominale e la diarrea sono emersi come potenziali indicatori di infezione da CMV rispetto ad altre presentazioni cliniche.

Introduction: Cytomegalovirus (CMV) infection frequently affects patients with Ulcerative Colitis (UC) and it has been associated with disease relapse and increased severity. Our study aimed to assess clinical and biochemical differences between CMV-positive UC patients with moderate to severe disease relapse and those without CMV infection.

Methods: We retrospectively included all patients with UC who were followed for at least one year at the Unit of Gastroenterology of the Azienda Ospedale Università Padova and that were studied for CMV infection at the time of a moderate/severe reactivation (pMayo ≥ 5 and/or fecal calprotectin ≥ 250 and/or endoscopic Mayo ≥ 2) from January 2016 to October 2023. Patients were considered CMV-positive if the virus was revealed by hematoxylin and eosin-stained (H&E), immunohistochemistry (IHC) or by qualitative PCR test on colonic biopsies (at least 1 CMV intranuclear inclusion body in H&E sections and/or the detection of CMV antigen by immunohistochemical staining and/or a positive tissue viral load detected by qualitative PCR test on colonic biopsies). Demographic and clinical features, fecal calprotectin, and previous and ongoing UC therapy were compared between CMV-positive patients and those who tested negative. Finally, the anti-CMV therapy administered was reported. Differences between the two study groups were assessed using the independent-samples t-test, while differences in the categorical analysis were analyzed using the Chi-squared test. A p-value < 0.05 was considered significant. STATA 11 was used for statistical analysis.

Results: We retrospectively included 203 UC patients with moderate-to-severe disease (39.95% females, mean age at study $50,8 \pm 16,7$ years, time from diagnosis $10,9 \pm 9,4$ years). 32 patients (15.76%) were positive for CMV infection; no differences in gender, age, and time from diagnosis were observed between CMV-positive and negative patients. Serum quantitative CMV-DNA was tested in 26 patients and > 1000 copies/ml in 17 patients (65.38%) were detected. Approximately half of the patients were treated with immunomodulatory therapy during disease relapse with a similar distribution between CMV-positive and negative patients ($p = 0.863$). 93.75% of CMV-positive patients had diarrhoea compared to 74.85% of patients without CMV infection ($p = 0.018$), and abdominal pain was present in 71.88% CMV-positive compared to 41.52% CMV-negative

patients ($p=0.002$). In contrast, symptoms like fever and blood in the stools had similar rates in the two groups ($p=0.678$ e $p=0.126$ respectively). Mean levels of fecal calprotectin were similar between the two groups ($p = 0.108$). Hospitalization was necessary in 93.75% of CMV-positive patients compared to 31.36% of CMV-negative patients ($p\leq 0.001$). CMV-positive patients were treated with oral or intravenous steroids and switched to UC biological therapy more frequently than CMV-negative patients ($p=0.023$). In parallel, 18/32 CMV-positive patients were treated with Ganciclovir for 3-5 days, and 25/32 were subsequently treated with Valganciclovir for another 2-6 weeks.

Conclusions: CMV-positive UC patients required systemic steroid therapy and hospitalization more frequently than non-infected patients, suggesting a more challenging management of the disease. Moreover, symptoms such as abdominal pain and diarrhoea emerged as potential indicators of CMV infection when compared to other clinical presentations.

1. INTRODUZIONE

1.1. LE MALATTIE INFIAMMATORIE CRONICHE INTESTINALI

1.1.1. Definizione e epidemiologia

Le malattie infiammatorie croniche intestinali (definite dall'acronimo inglese IBD: *Inflammatory Bowel Disease*) sono un gruppo di patologie caratterizzate da un'inflammatione cronica del tratto gastrointestinale. I due sottotipi di malattia maggiormente noti sono la Colite Ulcerosa (o *Ulcerative Colitis*, UC) e la Malattia di Crohn (o *Crohn Disease*, CD). Circa il 10% delle IBD si manifesta come una forma intermedia, in cui non è possibile distinguere in modo netto tra UC, CD e altre cause di colite: queste forme sono chiamate IBD-U (*Unclassified*). (1)

I dati più recenti mostrano che l'incidenza del morbo di Crohn in Europa è stimata tra 0.4 e 22.8 ogni 100000 persone/anno, mentre l'incidenza della rettocolite ulcerosa risulta maggiore, tra 2.4 e 44 ogni 100000 persone/anno. Sia il morbo di Crohn che la rettocolite ulcerosa presentano un picco di incidenza in giovane età, tra i 20 e i 40 anni, nonostante il picco della rettocolite ulcerosa si presenti 5-10 anni più tardivamente rispetto al morbo di Crohn. Alcuni studi riportano un secondo picco di incidenza meno consistente nella popolazione più anziana, tra i 60 e gli 80 anni; tuttavia questo dato rimane inconsistente. L'età alla diagnosi è stata studiata per genere ed è emerso che il rischio di sviluppare il morbo di Crohn è più basso nelle femmine durante l'infanzia ma più alto durante l'adolescenza. Al contrario la rettocolite ulcerosa si manifesta in egual modo nei due generi fino ai 45 anni, in età più tardiva il rischio maggiore di manifestazione si ha nel genere maschile. Negli ultimi anni l'incidenza della rettocolite ulcerosa è globalmente aumentata. Complessivamente si stima che 1.3 milioni di persone in Europa siano affette da IBD, che equivale allo 0.2% della popolazione europea. (2)

1.1.2. Fattori di rischio e eziopatogenesi

Durante gli ultimi decenni sono stati identificati i principali fattori implicati nella patogenesi della malattia di Crohn e della colite ulcerosa. Tra questi si annoverano l'ambiente, la genetica, il microbiota intestinale e la risposta immunitaria. (3)

L'ambiente e lo stile di vita

Molti aspetti dello stile di vita moderno influiscono sull'immunità sia sistemica che intestinale. Questi includono i cambiamenti nel microbiota, l'uso di antibiotici, le abitudini alimentari e il fumo.(4)

Le prove epidemiologiche mostrano una chiara correlazione tra la diminuzione delle malattie infettive, l'uso di antibiotici, le vaccinazioni e un miglioramento generale delle condizioni igieniche alimentari, dell'acqua e delle abitazioni, con un aumento generale dell'incidenza dei disturbi autoimmuni e infiammatori cronici. Questa scoperta costituisce la base della cosiddetta "*hygiene hypothesis*". Per quanto concerne le IBD, i dati concludono che l'esposizione agli elminti è uno dei fattori ambientali più fortemente associati ad un basso rischio di sviluppo della malattia. (5)

L'incremento drammatico della prevalenza dell'obesità durante gli ultimi due decenni è stato definito come una forma di 'infiammazione epidemica', in quanto il tessuto adiposo conduce ad uno stato di infiammazione cronica. (6)

Anche se i pazienti con obesità e IBD rappresentano ancora una minoranza, questi tendono ad avere più complicazioni e un decorso clinico più severo, pur non essendoci ancora l'evidenza che l'obesità influisca sul decorso della malattia.(7)

La genetica

La genetica sicuramente svolge un ruolo chiave nella patogenesi delle malattie infiammatorie croniche intestinali.

Il primo studio di associazione genomica (GWAS) sulle IBD ha rivelato un'associazione altamente significativa tra la malattia di Crohn e il gene IL23R, che codifica per il recettore della citochina pro-infiammatoria IL-23. Una variante codificante non comune conferisce una forte protezione contro lo sviluppo della malattia. Questi risultati e studi precedenti sul ruolo pro-infiammatorio di IL-23 hanno permesso di ipotizzare di poter utilizzare questa via di segnalazione come un target terapeutico nella malattia infiammatoria intestinale.(8)

Utilizzando il *Next-generation sequencing* sono state successivamente identificate ulteriori varianti rare associate alle IBD. Ad ora sono stati riconosciuti 163 loci genetici implicati nello sviluppo di queste patologie: 110 sono associati a entrambe le forme di IBD, 30 sono specifici per la malattia di Crohn e 23 sono specifici per la colite ulcerosa.

Molti loci IBD sono anche implicati nella genesi di altre patologie immunomediate, quali spondilite anchilosante e psoriasi. Questi loci contengono dei geni coinvolti nelle immunodeficienze primarie, nella funzione dei linfociti T, nella modulazione della produzione di citochine e nelle malattie micobatteriche. (9)

Il microbiota intestinale

Il tratto gastrointestinale ospita la più grande comunità microbica del corpo, e gli studi hanno rivelato un impressionante numero di geni microbici che influenzano potentemente l'espressione genica dell'ospite. Le prime esposizioni ambientali, incluse la modalità di parto, il latte, il cibo, l'igiene e diversi altri fattori esercitano un effetto fondamentale sulla formazione del microbiota intestinale nell'infanzia. Successivamente durante il corso della vita il microbiota intestinale varia nella sua composizione. (10)

La colonizzazione microbica precoce dell'intestino è essenziale per lo sviluppo e la maturazione del sistema immunitario, con l'obiettivo di stabilire una relazione simbiotica di tolleranza e immunità protettiva.

A livello microbiologico sono presenti anomalie nel microbiota intestinale, definite come disbiosi, in entrambe le forme di IBD, sia quantitativamente che qualitativamente. È stata infatti osservata sia una disbiosi verso specifici organismi che una ridotta complessità dei batteri commensali. (11)

Una domanda fondamentale è se la disbiosi associata alle IBD costituisca un fattore di rischio per lo sviluppo della patologia oppure se sia l'effetto di tale condizione sul microbiota. A sostegno della prima possibilità, esistono prove che il microbiota sia influenzato almeno in parte dal genotipo dell'ospite; a sostegno della seconda ipotesi, molte prove cliniche e sperimentali suggeriscono che infezioni, antibiotici, farmaci e dieta possano indurre disbiosi.

È comunque difficile considerare che la disbiosi da sola sia sufficiente a indurre le IBD, mentre sembrerebbe più probabile che le perturbazioni del microbiota intestinale siano rilevanti se combinate con anomalie ambientali o immunitarie. (3)

La modalità di parto, intesa come parto cesareo o per via vaginale, nota per influenzare il microbiota intestinale fin dalla nascita, sembra non esercitare un ruolo sostanziale nel rischio di sviluppo di IBD.(12)

Questi dati sembrano suggerire che le sole alterazioni microbiche siano insufficienti a causare la malattia infiammatoria intestinale cronica.

Un altro fattore chiave nella patogenesi delle malattie infiammatorie croniche è l'aumentata permeabilità intestinale. Il malfunzionamento della barriera mucosale comporta l'instaurarsi di processi infiammatori: qualsiasi interruzione di tale barriera potrebbe facilitare l'assorbimento di prodotti alimentari, microbici e xenobiotici, e provocare una risposta infiammatoria. (13)

Nei pazienti con malattia di Crohn attiva è stato osservato che un'aumentata permeabilità intestinale può essere un indicatore di un aumentato rischio di ricaduta clinica.(14)

La risposta immunitaria

Un'attivazione generale della risposta immunitaria umorale è stata riscontrata sia nel CD che nell'UC.

Per quanto riguarda i pazienti affetti da UC è stato descritto un anticorpo legato al colon (CCA-IgG) che reagisce con estratti di tessuto colico. I risultati suggeriscono la presenza di un "autoantigene" colico capace di innescare una specifica risposta anticorpale. (15)

Questo stesso autoantigene è presente anche nella cute, nei dotti biliari, nella colecisti, negli occhi e nelle articolazioni, siti tipici delle manifestazioni extra-intestinali della colite ulcerosa. Ciò suggerisce che una risposta autoimmune a questo antigene, che porta all'attivazione del complemento mediata da IgG1, potrebbe costituire un possibile meccanismo patogenetico sia per la patologia intestinale che per le manifestazioni extra-intestinali in questi pazienti. (16)

La tropomiosina è stata identificata essere l'autoantigene con cui reagiscono questi anticorpi. I pazienti affetti da colite ulcerosa, ma non quelli affetti da malattia di

Crohn, presentano una risposta autoanticorpale mucosale contro le isoforme di tropomiosina hTM5 e hTM1. (17)

Nel siero dei soggetti con UC, inoltre, sono stati identificati degli anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili, con una prevalenza che varia dal 50 al 90%, che si ritrovano anche associati alla colangite sclerosante primitiva. (18)

Invece per quanto riguarda i pazienti affetti da CD è stata osservata una propensione a sviluppare anticorpi contro diversi antigeni microbici.

Finora nessuno degli anticorpi descritti nella malattia di Crohn o nella colite ulcerosa è stato dimostrato avere potenziale fisiopatogenetico. (3)

Oltre alla risposta umorale, anche quella cellulo-mediata risulta alterata nelle IBD. Nella malattia di Crohn vi è un eccesso di cellule T attivate nella mucosa, che risultano resistenti all'apoptosi per un'alterazione nel meccanismo regolato dalle proteine proapoptotiche Bcl2 e Bax. Un'apoptosi insufficiente delle cellule T potrebbe interferire con l'eliminazione clonale e il mantenimento della tolleranza, risultando in un accumulo inappropriato delle cellule T che contribuisce all'infiammazione cronica. (19)

Un altro regolatore negativo dell'immunità intestinale è il gene soppressore dei tumori TP53, il cui ruolo è quello di inibire il ciclo delle cellule T e di conseguenza impedire l'espansione delle cellule T; la loro funzione, infatti, è compromessa nei pazienti con CD.

Sembrerebbe che la promozione della morte cellulare possa essere il meccanismo che spiega l'effetto benefico degli immunosoppressori come infliximab e adalimumab (anticorpi monoclonali anti TNFalfa), che agiscono influenzando la produzione di citochine dai monociti ed inducendo, pertanto, l'apoptosi nei monociti attivati. (20)

Inoltre è ormai noto che la produzione di citochine proinfiammatorie (come IL-1 β , IL-6 e TNF) è aumentata nella mucosa sia della malattia di Crohn che della colite ulcerosa.(3)

1.2. LA RETTocolite ULCEROSA

1.2.1. Definizione e eziologia

La colite ulcerosa è un disturbo infiammatorio cronico idiopatico della mucosa del colon.

L'infiammazione inizia nel retto e si può estendere in senso prossimale, in modo continuativo, andando a coinvolgere una parte o l'intero colon. Tuttavia, alcuni pazienti con proctite o colite sinistra presentano un'area di infiammazione al cieco, e talvolta, seppur in rari casi, si osserva un risparmio del retto.(21)

La UC ha un'incidenza e una prevalenza maggiori rispetto al CD. Nord America e Europa settentrionale presentano i tassi di incidenza e prevalenza più elevati di colite ulcerosa, con un'incidenza variabile da 9 a 20 casi per 100.000 persone-anno e tassi di prevalenza da 156 a 291 casi per 100.000 persone. Presenta un modello bimodale di incidenza, con il picco principale di insorgenza tra i 15 e i 30 anni e un secondo picco più modesto tra i 50 e i 70 anni. Gli studi non evidenziano differenza di incidenza nei due sessi, nonostante secondo alcuni studi vi sia una leggera predilezione per il genere maschile.(21)

Il fattore di rischio indipendente più importante per lo sviluppo della patologia è una storia familiare positiva per malattia infiammatoria cronica intestinale. La letteratura riporta una prevalenza generale di IBD del 7.9% tra i parenti dei soggetti affetti da UC. Il rischio risulta particolarmente elevato nei parenti di primo grado: tra questi la prevalenza è stimata essere 15 volte più elevata rispetto alla popolazione generale. (22)

Il tasso di concordanza per UC tra gemelli monozigoti risulta del 6.3%: il ruolo della genetica nelle IBD è ormai riconosciuto, anche se risulta molto più evidente nel CD, in cui il tasso di concordanza tra gemelli monozigoti raggiunge il 58.3%. (23)

L'incidenza della colite ulcerosa è più elevata nei paesi sviluppati rispetto ai paesi in via di sviluppo e nelle aree urbane rispetto a quelle rurali. Il miglioramento dell'igiene nei paesi industrializzati riduce l'esposizione alle infezioni enteriche durante l'infanzia, limitando la maturazione del sistema immunitario mucosale.

Secondo l'*hygiene hypothesis* questo predispone in età adulta allo sviluppo di una risposta immunitaria anomala in seguito all'esposizione ai microorganismi.(21)

Diversi fattori ambientali agiscono come trigger o fattori protettivi per UC, tra questi ultimi riveste particolare importanza il fumo. Il fumo è un fattore protettivo contro lo sviluppo della colite ulcerosa, infatti l'incidenza di UC è maggiore tra i non-fumatori. Inoltre i pazienti affetti da UC che fumano tendono ad avere un decorso della malattia più lieve, con minor necessità di ospedalizzazione e terapia medica rispetto ai non-fumatori. (24)

Le infezioni gastrointestinali predispongono ad un aumentato rischio di IBD soprattutto nell'anno successivo all'episodio infettivo. L'infezione intestinale potrebbe innescare l'inizio di un processo infiammatorio cronico che, sostenuto da altri determinanti genetici ed ambientali, porterebbe allo sviluppo della malattia intestinale. Non è stato documentato un patogeno specifico che aumenti il rischio, bensì si ritiene che sia la presenza di una generica infiammazione intestinale acuta in risposta ad un'infezione batterica o virale che porta all'inizio dell'IBD in pazienti geneticamente suscettibili. (25)

La diagnosi di UC si basa sull'anamnesi e sulla valutazione clinica e viene poi confermata da reperti di laboratorio, sierologici, radiologici, endoscopici e istologici. (26)

I criteri diagnostici più importanti sono elencati nella Tabella 1. (21)

Tabella 1- Caratteristiche diagnostiche della colite ulcerosa

Caratteristiche cliniche (i sintomi devono essere presenti per almeno 4 settimane)	<ul style="list-style-type: none">• Diarrea• Sanguinamento rettale occulto o manifesto• Dolore addominale che precede o è presente durante la defecazione• Esclusione di un'infezione intestinale
Caratteristiche di laboratorio	<ul style="list-style-type: none">• Anemia sideropenica• Trombocitosi• Ipoalbuminemia

	<ul style="list-style-type: none"> • Autoanticorpi (GAB, Anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili ANCA atipici o perinucleari) • Aumento della calprotectina fecale
Caratteristiche endoscopiche	<ul style="list-style-type: none"> • Coinvolgimento della mucosa diffuso e continuo, che inizia nel retto e si estende prossimalmente in modo continuo • Perdita del pattern vascolare • Perdita delle haustrature • Erosioni della mucosa, mucosa friabile (sanguinamento al contatto con l'endoscopia) o sanguinamento spontaneo ed ulcerazione • Mucosa edematosa, eritematosa • Pseudopolipi nella UC di lunga durata • Essudato mucopurulento
Caratteristiche istologiche	<ul style="list-style-type: none"> • Aumento dell'infiltrato infiammatorio mononucleare nella lamina propria • Deplezione delle mucine • Deplezione delle cellule caliciformi • Distorsione delle cripte, ramificazioni e atrofia • Ascessi delle cripte

1.2.2. Sintomi e score clinici ed endoscopici

Le manifestazioni cliniche e la classificazione di Montreal

La manifestazione clinica dell'UC più frequente è la rettorragia (>90%), spesso associata a dolori crampiformi (tenesmo, >70%) a livello del quadrante inferiore sinistro, o lungo l'intera lunghezza del colon nei pazienti con pancolite. Molto comune è anche l'urgenza fecale (>70%). (26)

Le artropatie infiammatorie e la colangite sclerosante primitiva (PSC) sono le manifestazioni extra-intestinali più comuni e importanti nella UC. La PSC viene

diagnosticata in circa il 2-10% dei pazienti con UC e talvolta si verifica in concomitanza all'epatite autoimmune (sindrome da sovrapposizione). Altre manifestazioni extra-intestinali coinvolgono la cute (eritema nodoso, pioderma gangrenoso), gli occhi (episclerite, uveite) e le ossa (osteoporosi). (27)

La classificazione più ampiamente utilizzata è stata sviluppata dal gruppo di lavoro di Montreal. I pazienti vengono classificati in base all'estensione della malattia, ovvero affetti da proctite (E1), colite sinistra (E2) o pancolite (E3), e in base alla severità della malattia al momento della valutazione come mostrato nella tabella sottostante. (Tabella 2, (21))

A differenza della malattia insorta in età adulta, la UC pediatrica è più spesso pancolica e si associa quindi maggiormente ad una colite acuta grave. (27)

Tabella 2- Classificazione di Montreal dell'estensione e della severità della colite ulcerosa

E1 (proctite)	Infiemmazione limitata al retto
E2 (colite sinistra, distale)	Infiemmazione limitata alla flessura splenica
E3 (pancolite)	Infiemmazione che si estende prossimalmente alla flessura splenica
S0 (remissione)	Nessun sintomo
S1 (lieve)	≤ 4 evacuazioni/die (con o senza sangue), assenza di sintomi sistemici, indici infiammatori nella norma
S2 (moderata)	4 evacuazioni/die, lievi sintomi sistemici
S3 (severa)	≥ 6 evacuazioni ematiche/die, FC ≥ 90 bpm, T ≥ 37.5 °C, Hb <105 g/L, VES ≥30mm/h

Gli score clinici ed endoscopici

Lo spettro dei reperti endoscopici va dall'attività lieve, in cui si osserva una mucosa ruvida e granulosa, un reticolo vascolare ridotto e lieve eritema, fino all'attività severa, in cui si ritrovano ulcere (a volte confluenti) e sanguinamenti emorragici spontanei, principalmente petecchiali. La transizione da una mucosa normale a una mucosa infiammata è tipicamente delineata in modo netto.

Il grado di attività infiammatoria può essere classificato secondo diversi score. Il *Mayo score* (Tabella 3,(28)) si basa sia su una valutazione clinica che su una endoscopica, mentre l'*Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity* (UCEIS) (Tabella 4, (29)) è una scala di valutazione prettamente endoscopica. (26)

Nella pratica clinica viene largamente utilizzato anche il *Partial Mayo score* (Tabella 5, (30)) che utilizza i tre parametri non invasivi che vengono valutati nel Mayo score completo, ovvero frequenza evacuativa, sanguinamento rettale e giudizio medico complessivo. Il punteggio complessivo permette una valutazione dell'attività di malattia. Uno score complessivo <2 è indice di remissione, tra 2 e 4 di attività lieve, tra 5 e 7 di attività moderata e un punteggio >7 indica un'attività severa. (30)

Tabella 3- Mayo score

Frequenza evacuativa	0	normale
	1	1-2 evacuazioni/die oltre il normale
	2	3-4 evacuazioni/die oltre il normale
	3	>4evacuazioni/die oltre il normale
Sanguinamento rettale	0	assente
	1	sangue visibile nelle feci in meno della metà delle evacuazioni
	2	sangue visibile nelle feci in metà delle evacuazioni
	3	sanguinamento in assenza di feci
Valutazioni endoscopiche	0	mucosa normale o esiti di guarigione
	1	patologia lieve (eritema, riduzione del disegno vascolare, moderata friabilità)
	2	patologia moderata (eritema marcato, perdita del disegno vascolare, friabilità, erosioni)
	3	patologia grave (sanguinamento spontaneo, ulcerazioni)
Giudizio complessivo del medico	0	normale
	1	patologia lieve
	2	patologia moderata
	3	patologia severa

Tabella 4- Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity (UCEIS)

Descrizione	Reperti (score)	Definizione
Pattern vascolare	Normale (1)	Pattern vascolare normale con arborizzazione capillare definita, o con perdita capillare marginale.
	Scomparso a chiazze (2)	Pattern vascolare scomparso a chiazze.
	Scomparso (3)	Pattern vascolare completamente scomparso
Sanguinamento	Nessuno (1)	Sangue non visibile
	Mucoso (2)	Alcuni punti o strisce di sangue coagulato sulla superficie della mucosa di fronte all'endoscopio e che possono essere lavati via.
	Luminale lieve (3)	Un po' di sangue libero nel lume
	Luminale moderato o severo (4)	Sanguinamento franco nel lume di fronte all'endoscopio o evidente stillicidio derivante dalla mucosa dopo aver lavato il lume o stillicidio evidente da una mucosa emorragica.
Erosioni e ulcere	Nessuna (1)	Mucosa normale
	Erosioni (2)	Piccole (<5mm) erosioni sulla mucosa o un colore giallo o bianco con bordo piano.
	Ulcere superficiali (3)	Soluzioni di continuo più grandi (>5mm) che sono discretamente ricoperte di fibrina e superficiali.
	Ulcere profonde (4)	Soluzioni di continuo più profonde e scavate con bordi sollevati.

Tabella 5- Partial Mayo score

Frequenza evacuativa	0	Evacuazioni nella norma
	1	1-2 evacuazioni/die oltre il normale
	2	3-4 evacuazioni/die oltre il normale
	3	>5 evacuazioni/die oltre il normale
Sanguinamento rettale	0	assente
	1	feci striate di sangue in meno della metà delle evacuazioni
	2	sangue evidente nelle feci in metà delle evacuazioni
	3	sanguinamento in assenza di feci
Giudizio complessivo del medico	0	normale
	1	patologia lieve
	2	patologia moderata
	3	patologia severa

I reperti di laboratorio

I parametri classici dell'infiammazione come la conta leucocitaria e la Proteina C Reattiva (PCR) generalmente non sono elevati, a meno che non ci si trovi davanti ad un'intesa attività infiammatoria dell'UC.

Nella colite lieve o nella proctite isolata, i parametri infiammatori fecali, come la calprotectina, sono molto più sensibili. Questi sono quindi adatti per il follow-up della malattia. Un valore di calprotectina fecale inferiore a 150-200 µg per grammo di feci è considerato un marcatore affidabile di remissione.

Un riscontro di laboratorio comune è l'anemia da carenza di ferro. (26)

I marcatori sierologici più frequentemente studiati nelle IBD sono gli anticorpi anti-citoplasma dei neutrofili (ANCA) e gli anticorpi anti- *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA). Gli ANCA perinucleari (pANCA) o atipici (cANCA) possono essere trovati nel 50-70% dei pazienti con UC e in meno del 10% dei pazienti con CD. La positività degli ANCA e la negatività per gli ASCA indicano una maggior probabilità di UC rispetto al CD. (27)

Il decorso clinico

Il decorso clinico della colite ulcerosa è caratterizzato dall'alternanza di periodi di remissione e ricaduta.

Alla diagnosi, il 30-50% dei pazienti ha una malattia confinata al retto o al colon sigmoideo (colite distale), il 20-30% presenta una colite sinistra e circa il 20% una pancolite. Il coinvolgimento del colon può modificarsi nel tempo: tra i pazienti con colite distale il 25-50% va incontro ad un aumento dell'estensione della malattia. I pazienti diagnosticati in giovane età e quelli con concomitante colangite sclerosante primitiva sono i soggetti maggiormente a rischio di un aumento dell'estensione della malattia successivamente alla diagnosi rispetto a coloro che presentano un esordio più tardivo. (21)

Le riacutizzazioni della malattia associate alla progressione dell'estensione anatomica di solito si associano ad un decorso grave e richiedono un trattamento medico più intensivo.

L'estensione anatomica dell'infiammazione mucosale è chiaramente uno dei fattori più importanti che determinano il decorso della malattia: i pazienti con malattia più severa tendono ad avere forme più estese rispetto a quelli con malattia meno grave. Inoltre, l'estensione della malattia è un importante predittore di cancro del colon-retto e di rischio di colectomia: i pazienti con pancolite hanno un rischio 3,5-4 volte maggiore rispetto a quelli con proctite di necessitare di colectomia durante la storia di malattia. I tassi di colectomia entro 10 anni dalla diagnosi sono del 20-30%, che aumenta al 40% nei pazienti con malattia prolungata ed estesa. (21)

Nonostante le manifestazioni e le possibili complicanze della malattia, i pazienti con colite ulcerosa non hanno un rischio aumentato di mortalità rispetto alla popolazione generale. (21)

1.2.3. Terapia medica

L'obiettivo terapeutico primario per la colite ulcerosa è indurre rapidamente la remissione e mantenerla a lungo termine senza l'utilizzo di steroidi. (31)

Il trattamento di prima linea per la UC lieve-moderata è la mesalazina (5-ASA), somministrata per via topica rettale nel dosaggio di 1 g al giorno nella proctite lieve-moderata, per via sia topica che orale nella proctosigmoidite lieve-moderata, e solo

per via orale nella colite estesa. Il trattamento combinato, orale e topico, porta a tassi di remissione più elevati rispetto ai trattamenti singoli.

Se i sintomi non migliorano rapidamente con la mesalazina, diventa necessario ricorrere ai corticosteroidi orali. Sebbene quasi il 70% dei pazienti risponda al primo trattamento con corticosteroidi, il 22% sviluppa dipendenza nel primo anno di terapia, e solo la metà mantiene la remissione libera da corticosteroidi. (21)

La mesalazina rappresenta il trattamento di prima linea delle malattie lievi-moderate e dovrebbe essere continuata come terapia di mantenimento di prima linea in seguito al raggiungimento iniziale della remissione clinica con l'impiego di mesalazina e/o steroidi. (31)

Per i pazienti con risposta inadeguata alle terapie convenzionali, sono disponibili 7 farmaci approvati dall'Agenzia Europea dei Medicinali (EMA) per UC moderata-severa: 5 biologici (gli antagonisti del fattore di necrosi tumorale infliximab, adalimumab e golimumab; l'anticorpo anti-integrina vedolizumab; e l'antagonista dell'interleuchina-12/23 ustekinumab), e le *small molecules* (l'inibitore non selettivo delle Janus kinase (JAK) tofacitinib, e l'inibitore preferenziale orale JAK1 filgotinib). (32)

Recentemente è stato approvato dall'AIFA anche upadacitinib, un inibitore orale di JAK1, già utilizzato per il trattamento di altre patologie quali artrite reumatoide, artrite psoriasica, spondilite anchilosante e dermatite atopica.(33)

Tra gli agenti biologici ad oggi disponibili non è stata rilevata una differenza statisticamente significativa a livello di efficacia. (34)

L'efficacia dei farmaci può essere valutata considerando dei target clinici, endoscopici ed istologici.

Gli obiettivi clinici includono la risoluzione del sanguinamento rettale e la normalizzazione del numero di evacuazioni. Porre come obiettivo di trattamento solo la remissione clinica non è più sufficiente per avere la certezza di un buon controllo della malattia, in quanto il benessere clinico potrebbe celare una malattia

comunque attiva, per cui è necessario ottenere una prova diretta della risoluzione dell'inflammazione intestinale. (35)

Un secondo outcome valutabile è quello endoscopico, ovvero l'assenza di ulcerazione alla colonscopia. Per la stratificazione della severità è raccomandato usare il Mayo score e la valutazione endoscopica dovrebbe essere eseguita 3-6 mesi dopo l'inizio della terapia con biologici o *small molecules*. Tuttavia è stato dimostrato che il target endoscopico è meno efficace nel predire gli esiti clinici rispetto alla remissione istologica. (34,35)

Il target istologico consiste nella risoluzione dell'inflammazione a livello istologico, che costituisce come un importante fattore prognostico e un potenziale obiettivo terapeutico nei pazienti con UC.

Tuttavia, nonostante l'importanza crescente della remissione istologica come obiettivo di trattamento per UC, non ci sono ad oggi confronti diretti sulla remissione istologica indotta dai biologici approvati dalla FDA per l'UC.(34)

Per quanto riguarda la remissione clinica ed endoscopica, ad oggi solo uno studio ha confrontato direttamente due biologici, adalimumab contro vedolizumab. Lo studio VARSITY ha riportato un rate di remissione del 31.3% nei pazienti con colite ulcerosa moderata-severa trattati con vedolizumab, rispetto al 22.5% nei pazienti trattati con adalimumab, dimostrando una superiorità del vedolizumab nel raggiungimento della remissione clinica ed endoscopica. (36)

Nei casi di grave riacutizzazione acuta di colite ulcerosa i pazienti dovrebbero essere ricoverati per il trattamento e trattati con steroidi sistemici. (31)

Quando la malattia non risponde al trattamento convenzionale si parla di un decorso complicato. (26)

Una malattia steroideo-dipendente è definita come condizione in cui i glucocorticoidi somministrati per indurre la remissione non possono essere ridotti a meno di 10 mg/giorno entro tre mesi dall'inizio della terapia senza una recidiva, oppure si verifica una ricaduta precoce entro un breve periodo di tempo. (37)

In questi casi si può ricorrere all'uso delle tiopurine, degli anticorpi anti-TNF come infliximab, adalimumab, e golimumab, dell'anticorpo anti-integrina vedolizumab, e delle *small molecules* quali tofacitinib e ustekinumab. (26)

Quando si parla di UC refrattaria agli steroidi ci si riferisce generalmente ad una malattia in cui non è possibile ottenere una remissione con una dose standard di prednisolone (1 mg/kg di peso corporeo) entro 4 settimane.(37)

Gli stessi farmaci utilizzati per trattare la UC steroido-dipendente possono anche essere utilizzati nei casi refrattari agli steroidi. (26)

1.2.4. Terapia chirurgica

Sebbene la base del trattamento della UC sia medica, circa il 20-30% dei pazienti alla fine necessita di intervento chirurgico.

Le indicazioni per il trattamento chirurgico della UC sono divise in chirurgia d'emergenza, d'urgenza ed elettiva. Le procedure d'emergenza vengono eseguite per complicazioni potenzialmente letali della colite fulminante che non risponde al trattamento medico. La chirurgia urgente è indicata nei pazienti con grave colite ulcerosa ricoverati in ospedale che non rispondono al trattamento medico intensivo. Le procedure elettive sono indicate in caso di refrattarietà o di intolleranza ai trattamenti di mantenimento a lungo termine e in caso di displasia o cancro del colon-retto.(21)

L'obiettivo della chirurgia d'emergenza e d'urgenza è salvaguardare la salute del paziente mediante la rimozione del colon infiammato. Per tale motivo in queste situazioni si esegue una colectomia subtotale con ileostomia temporanea senza rimozione del moncone rettale. In un secondo tempo chirurgico può essere eseguita l'anastomosi anale con riserva ileale (IPAA, *Ileal Pouch Anal Anastomosis*) e la chiusura dell'ileostomia. (21)

Nella chirurgia elettiva, invece, la procedura standard è la proctocolectomia con confezionamento di pouch ileale. In pazienti altamente selezionati, quali pazienti anziani, si può comunque considerare una colectomia totale con anastomosi

ileorettale. Tuttavia in questi casi permane il rischio di cancro del retto, motivo per cui è necessario mantenere un follow up endoscopico. (21)

La prevalenza generale del cancro del colon-retto nei pazienti con UC è stimata essere del 3.7%. Il rischio di cancro del colon-retto nella UC è aumentato nei pazienti con malattia di lunga data rispetto alla popolazione generale, con un rischio cumulativo del 2% dopo 10 anni dalla diagnosi, dell'8% dopo 20 anni e del 18% dopo 30 anni. (38)

I fattori associati ad un aumento del rischio di cancro del colon-retto nei pazienti con colite ulcerosa sono diversi, tra questi i maggiori determinanti sono la durata e l'estensione della malattia alla diagnosi.

La pancolite ha un rischio 14,8 volte maggiore rispetto alla popolazione generale; la colite sinistra ha un rischio 2,8 volte aumentato, mentre nei pazienti con proctite o proctosigmoidite il rischio è solo lievemente aumentato. (39)

Altri fattori che aumentano il rischio di cancro del colon-retto includono la gravità dell'infiammazione endoscopica e istologica, una storia familiare positiva di cancro coloretale sporadico (con un rischio aumentato di due volte), stenosi, accorciamento del colon tubulare e diversi pseudopolipi post-infiammatori (con un rischio aumentato di due volte). (21)

Dato che la mortalità per il cancro del colon associato alla colite può essere ridotta mediante le colonscopie di sorveglianza, queste dovrebbero essere programmate in base alla stratificazione del rischio. (31)

1.3. L'INFEZIONE DA CITOMEGALOVIRUS NELLA RETTOCOLITE ULCEROSA

1.3.1. Epidemiologia

Il citomegalovirus (CMV) è un membro della famiglia Herpesviridae, che infetta tra il 40 e il 100% degli adulti entro i 40 anni. (40)

L'infezione da CMV viene contratta solitamente in giovane età, durante l'infanzia o l'adolescenza, attraverso il contatto con urina, saliva, latte materno, sangue, lacrime o fluidi vaginali dei soggetti infetti. (41)

Negli individui sani l'infezione primaria è tipicamente asintomatica, ma talvolta può causare lievi sintomi tra cui febbre, mialgie e linfadenopatia. Tuttavia, come molti altri virus della famiglia Herpesviridae, il CMV rimane latente nell'ospite e può riattivarsi successivamente nel corso della vita, in particolare negli individui con un sistema immunitario compromesso. (42)

L'infezione sintomatica da CMV si manifesta tipicamente nei pazienti immunocompromessi quali neonati, trapiantati di organo solido, pazienti con HIV o pazienti in terapia immunosoppressiva. (43)

Tra i soggetti a rischio di riattivazione si ritrovano i pazienti sottoposti a terapia farmacologica immunosoppressiva come quelli con malattia infiammatoria intestinale, nei quali la riattivazione coinvolge il tratto gastrointestinale, in particolare il colon, manifestandosi clinicamente con una colite acuta. (42,44)

1.3.2. Il ruolo del CMV nella rettocolite ulcerosa

L'associazione tra CMV e IBD è stata descritta in letteratura fin dal 1961. Tuttavia, la natura della relazione tra queste due malattie è ancora oggetto di dibattito. (45)

Numerosi studi hanno provato ad indagare questa associazione al fine di comprendere se il CMV sia responsabile della severità dell'infiammazione della malattia o semplicemente sia un marcatore surrogato di colite grave. (43)

La concomitante rilevazione dell'infezione primaria da CMV all'esordio della malattia infiammatoria cronica intestinale è stata riportata in alcuni casi. Queste osservazioni sottolineano la capacità delle proteine prodotte dal CMV di potenziare citochine pro-infiammatorie in grado di mantenere un'infiammazione colica locale.

In altri casi il CMV determina solo un'esacerbazione della malattia in soggetti che già presentano una colite preesistente.

Studi sperimentali hanno dimostrato che le cellule altamente proliferanti, quali quelle del tessuto granulomatoso delle zone infiammate o nella profondità delle ulcere, sono facilmente oggetto di infezione da CMV. (46)

La prevalenza dell'infezione latente da CMV definita da una positività sierologica alle IgG varia dal 45% al 100%. Sembra non esserci alcuna differenza nell'esposizione al CMV tra i pazienti con malattia infiammatoria intestinale e la popolazione generale. Tuttavia emerge una differenza significativa tra i due gruppi in termini di livelli di IgM anti-CMV, con tassi più alti tra i pazienti con IBD. È stato osservato anche un rischio significativamente aumentato di replicazione del CMV nel siero, valutato attraverso i livelli di antigenemia del CMV e la presenza di DNA del CMV nel sangue, nei pazienti con UC rispetto ai controlli sani. (47)

La prevalenza della colite da CMV nei pazienti con IBD è stata stimata tra lo 0,53% e il 4%. Tuttavia nei pazienti con malattia severa o refrattaria agli steroidi la prevalenza arriva al 40%.

Rispetto alla popolazione generale i pazienti con IBD, e soprattutto con UC, presentano una probabilità significativamente più elevata di colite da CMV. (44,48)

È interessante notare che è stata riportata una prevalenza più elevata di colite da CMV nei pazienti con UC rispetto a quelli con CD. Questo potrebbe essere dovuto al fatto che la colite ulcerosa ha sempre un coinvolgimento colico, determinando di per sé una maggiore infiammazione del colon, aggravata dall'infezione da CMV. (44)

I fattori che sono stati associati a un aumentato rischio di riattivazione del CMV nelle IBD includono il sesso femminile, la pancolite, l'età avanzata, la terapia immunosoppressiva (steroidi e azatioprina), una durata di malattia inferiore a 60 mesi, e una conta dei leucociti nel sangue inferiore a $11/nL$. (49,50)

La probabilità di colite da CMV sembra essere associata alla severità di malattia, all'attività, all'estensione anatomica e al trattamento farmacologico. (48)

La presenza di colite da CMV nei pazienti con IBD sembra essere associata a un aumento della mortalità ospedaliera, della morbilità, della durata dell'ospedalizzazione e delle spese ospedaliere rispetto ai pazienti senza colite da CMV. (44)

Al giorno d'oggi, non sono stati ancora chiariti alcuni punti chiave dell'infezione da CMV nei pazienti con IBD: in particolare, non è stata valutata la storia naturale dell'infezione da CMV, l'incidenza di ricaduta in caso di permanenza del virus nel colon o il ruolo del CMV nel rischio di sviluppare patologie neoplastiche nei pazienti IBD. (46)

I meccanismi fisiopatologici dell'infezione da CMV nel determinare un peggioramento dell'UC sono ancora poco chiari. Mentre alcuni studi hanno mostrato una maggiore prevalenza di UC endoscopicamente severa nei pazienti con positività all'antigenemia del CMV rispetto ai pazienti non infetti, altri studi non hanno trovato alcuna relazione tra la positività del CMV-DNA nel sangue o all'immunoistochimica (IHC) a livello tissutale e il punteggio endoscopico del Mayo score. (47)

Anche riguardo alla severità endoscopica ci sono dati contrastanti. Nello studio di Yoshino infatti si evidenzia l'assenza di differenza significativa nel punteggio degli score endoscopici tra pazienti CMV-positivi e CMV-negativi. (51)

Altri studi sostengono che l'attività di malattia alla diagnosi valutata sia con il Mayo score globale sia con il Mayo score endoscopico sia maggiore nei pazienti CMV-positivi rispetto ai CMV-negativi. Questi studi riportano un'attività maggiore, una maggior severità endoscopica con presenza di ulcere profonde e un outcome peggiore nelle coliti da CMV rispetto ai controlli. (52)

Dal punto di vista endoscopico, tuttavia, non sono mai stati definiti dei reperti specifici dell'infezione da CMV: alla colonscopia è possibile riscontrare uno spettro di lesioni che varia da piccole lesioni aftoidi a ulcere profonde. (15)

Uno studio di Lopes che ha incluso 95 pazienti con IBD endoscopicamente attiva e 50 controlli sani ha valutato la frequenza di riscontro del DNA del CMV a livello colico. Nei pazienti con IBD è stato riscontrato nel 12.1%, mentre nei controlli sani il riscontro è stato dello 0%. Nella colite acuta grave, i dati ottenuti riportano la

presenza di replicazione del CMV colico tra il 21% al 34% dei pazienti. Lo stesso studio però non ha riscontrato differenze nel carico virale tra le biopsie eseguite su mucosa malata e quelle eseguite su mucosa macroscopicamente sana. Ciò ha quindi dimostrato che non esiste una correlazione tra il carico virale mucosale e la gravità endoscopica. (47,53)

L'associazione tra il virus e la malattia non è stata ancora completamente compresa. L'attuale teoria è che il CMV agisca come un'opportunisto nelle mucose infiammate del colon nei pazienti con IBD. (44)

I pazienti con rettocolite ulcerosa sono più suscettibili alla riattivazione del CMV per molte ragioni (Figura 1 (47)). In primo luogo, presentano un'attività NK e un'immunità mucosale intrinsecamente compromesse. In secondo luogo, l'immunosoppressione compromette il funzionamento dei linfociti T, causando la riattivazione del virus. Inoltre, è stato documentato che i corticosteroidi, comunemente usati come terapia in questi soggetti, inducono la replicazione virale in vitro.

È stato dimostrato che anche la produzione aumentata di citochine, in particolare del TNF- α , promuove la riattivazione del CMV. (47)

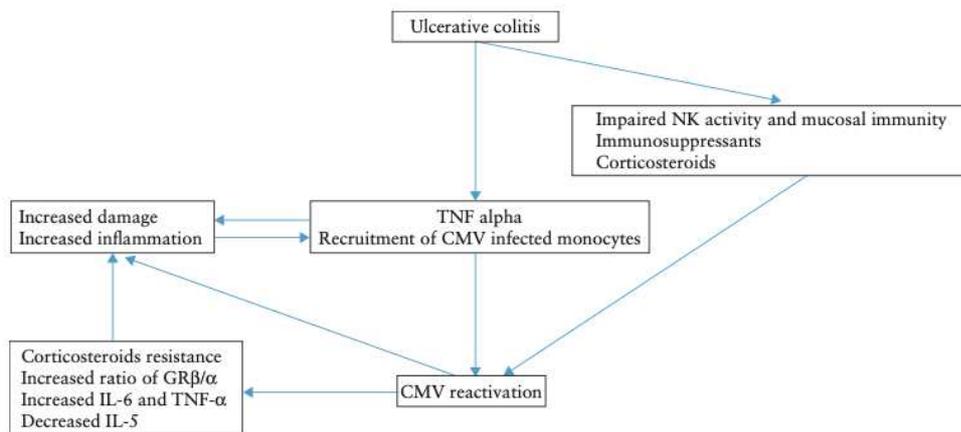


Figura 1

L'uso di corticosteroidi e della terapia immunosoppressiva può riattivare il virus, con un aumento della migrazione di monociti e macrofagi infetti da CMV nel

tessuto infiammato. Questo determina un'ulteriore replicazione del virus in presenza di TNF- α e crea un circolo vizioso con un'inflammatione intestinale che si auto-alimenta. Contrariamente nel CD, si assiste ad una produzione di interferone- α dai linfociti CD4+ con conseguente inibizione della riattivazione del CMV. Questi meccanismi potrebbero spiegare la differenza nei tassi di infezione da CMV tra rettocolite ulcerosa e malattia di Crohn. (47)

1.3.3. L'elusione della risposta immunitaria da parte del citomegalovirus

Il CMV ha sviluppato la capacità di eludere il sistema immunitario attraverso diversi meccanismi, al fine di evitare il riconoscimento e la distruzione da parte dei linfociti T CD8+.

Il CMV produce alcune proteine, come US2, US3 e US11, che inibiscono la presentazione degli antigeni virali ai linfociti T, bloccando le MHC di classe I nel reticolo endoplasmatico o nel citosol. La down-regulation dei marcatori di superficie cellulare agisce sulle risposte dipendenti dall'interferone-alfa/beta influenzando i diversi livelli della trasduzione del segnale IFN. Produce inoltre omologhi delle proteine MHC di classe I e può competere per il legame e la presentazione di antigeni virali. (46)

Le risposte immunitarie umane all'infezione da CMV si basano prevalentemente sulle popolazioni di cellule T, CD8+ e CD4+, come dimostrato negli ospiti immunocompetenti. Le cellule T controllano la replicazione virale e la malattia, ma non portano all'eradicazione completa, determinando quindi la latenza del virus nei soggetti infetti. (43)

1.3.4. I metodi per la rilevazione del CMV

È importante chiarire la differenza tra infezione da CMV, in cui una persona è infetta ma non presenta alcuna caratteristica clinica di danni tissutali causati dal

virus, e malattia da CMV, in cui il CMV riattivato porta a danni tissutali e sintomi clinici.

Nel contesto della colite, la malattia da CMV si riferisce alla presenza del virus nel colon a livello della mucosa infiammata. Al fine di differenziare tra l'infezione da CMV e la malattia da CMV possono risultare utili sia le indagini su sangue che la biopsia del tessuto.(43)

I metodi disponibili per diagnosticare l'infezione intestinale da CMV includono l'istologia, la sierologia, la reazione a catena della polimerasi (PCR) per il DNA di CMV su sangue o su biopsie intestinali e l'antigene pp65 di CMV. (47)

La sierologia permette di evidenziare un'esposizione al virus. Con l'infezione primaria, si verifica un rapido aumento degli anticorpi IgM, che diventano rilevabili nel sangue entro la prima settimana dall'infezione. Nel corso dei successivi 3-6 mesi, le IgM diminuiscono fino a livelli indistinguibili, tranne in alcuni casi in cui persistono fino a 12-24 mesi. La persistenza delle IgM sembra essere correlata ad una concomitante immunosoppressione. In caso di presenza di un titolo crescente di IgM si può affermare di essere davanti ad un'infezione recente.

La riattivazione o la reinfezione innesca nuovamente una risposta IgM.

La produzione di IgG in risposta all'infezione da CMV avviene più tardivamente rispetto alle IgM, di solito poche settimane dopo l'aumento di queste, ma rimane elevata a lungo. (43)

La sieronegatività di un soggetto permette di escludere l'infezione: se un paziente è sieronegativo, non ha un'infezione da CMV (a meno che non venga testato nella prima settimana di infezione) e non presenterà dunque la malattia da CMV. (43)

I test di antigenemia per il CMV rilevano l'antigene pp65 del CMV nei leucociti circolanti attraverso la colorazione con anticorpi fluorescenti specifici per pp65. Questo test presenta una sensibilità del 60%-100% e una specificità dell'83%-100% per l'infezione da CMV. Tuttavia, si ritiene che la presenza di antigenemia non sia predittiva della rilevazione sottostante del CMV nel tessuto colonico nei pazienti con IBD. (43)

L'antigenemia del CMV sta venendo largamente sostituita dall'avvento della reazione a catena della polimerasi (PCR) sui leucociti, che fornisce una migliore quantificazione della presenza virale. La PCR sul DNA dei leucociti può rilevare e quantificare in modo affidabile la viremia da CMV. La sensibilità varia dal 65% al 100% e la specificità dal 40% al 92%. (43)

Rilevare direttamente la presenza di CMV nel colon è probabilmente un metodo più specifico per evidenziare il coinvolgimento del virus nella colite. Il CMV può essere rilevato a partire dalle biopsie coliche utilizzando l'ematosilina ed eosina (H&E), l'immunoistochimica (IHC) e la PCR sul tessuto. (43)

La probabilità di rilevare il virus risulta aumentata se i prelievi biotici vengono effettuati sulla mucosa vicino o all'interno di zone ulcerate. (46)

L'H&E mostra cellule ingrandite citomegaliche, circa 2 o 4 volte più grandi (25-35 μm) rispetto alle cellule circostanti, che contengono un'inclusione intranucleare basofila (8-10 μm) posizionata eccentricamente e talvolta circondata da un alone chiaro, che conferisce un aspetto simile a un "occhio di gufo" (Figura 2, (43)). Queste cellule mostrano anche una membrana nucleare ispessita, spesso associata a inclusioni intracitoplasmatiche più piccole e granulari. (46)

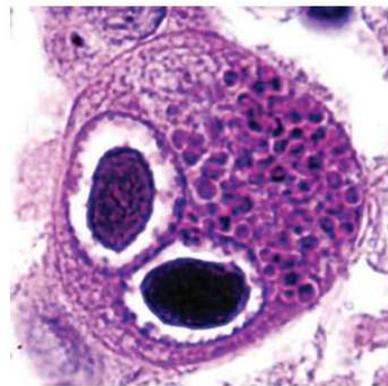


Figura 2

La presenza di queste cellule non solo denota un'infezione, ma correla anche con una colite scarsamente responsiva alla terapia standard per la IBD, suggerendo una malattia da CMV clinicamente rilevante. Il test è molto specifico (92%-100%), ma presenta una scarsa sensibilità (10%-87%). (43)

L'immunoistochimica (IHC) migliora la sensibilità istologica. Si tratta della rilevazione dell'antigene precoce del CMV utilizzando degli anticorpi monoclonali e permette di identificare le cellule infette nel colon. La sensibilità è stimata essere tra il 78% e il 93%. (43)

La PCR sul tessuto del colon permette di rilevare il DNA virale nel colon, anche se il significato di un risultato positivo in assenza di altri segni istologici di infezione rimane poco chiaro. In otto studi condotti su pazienti con IBD, solo due hanno dimostrato una correlazione tra istologia (H&E o IHC) e risultati della PCR sul tessuto, mentre gli altri sei hanno rilevato il DNA del CMV in una proporzione significativa di pazienti, nonostante l'assenza di rilevazione mediante H&E o IHC. È probabile che l'osservazione del DNA virale in assenza delle caratteristiche istologiche della malattia da CMV rappresenti una riattivazione a basso livello del CMV latente. Sia per quanto riguarda la PCR su tessuto che la PCR su sangue, sono necessari ulteriori studi mirati a definire un livello di soglia di DNA virale per discriminare tra infezione e malattia. (43)

In passato veniva utilizzata molto la coltura virale. Il virus è posto in una coltura di tessuto di fibroblasti e la diagnosi viene effettuata una volta che il virus causa le tipiche alterazioni citopatiche nei fibroblasti. Questo richiede giorni o settimane. Ha una specificità elevata dell'89%-100%, ma una sensibilità scarsa (45%-78%). Inoltre, la coltura non quantifica il livello di viremia e quindi non correla con l'attività nel colon. Tuttavia, considerando la sua bassa sensibilità rispetto ad altre tecniche e il tempo necessario per ottenere un risultato, la coltura del CMV non viene spesso impiegata in ambito clinico. Sono emerse nuove tecniche di coltura, tra cui le colture "shell vial": le cellule vengono brevemente incubate nei fibroblasti e colorate con anticorpi contro gli antigeni precoci, identificando il CMV prima che manifesti il suo effetto citopatico. Il tempo per ottenere il risultato si riduce a 24-72 ore e la sensibilità è stimata in un intervallo tra il 68% e il 100%. (43)

Nella rettocolite ulcerosa, quindi, l'istologia con colorazione H&E, l'immunoistochimica (IHC) e la PCR sui tessuti sono i metodi migliori, rispetto a sierologia, antigenemia e rilevazione del virus nel sangue, per determinare la malattia da CMV, poiché probabilmente è la presenza del virus stesso a livello del colon che correla con l'infiammazione colica. (47)

Gli autori infatti raccomandano nei casi di IBD refrattaria agli immunomodulatori l'uso della PCR su tessuto o dell'IHC per la ricerca del CMV. (54)

1.3.5. La colite da CMV nei soggetti affetti da rettocolite ulcerosa

Le linee guida della German Society of Digestive and Metabolic Diseases consigliano di eseguire i test diagnostici per ricercare nuovi casi o la riattivazione dell'infezione da CMV in tutti i pazienti che non rispondono in modo adeguato alla terapia farmacologica, specialmente se non responsivi alla terapia con steroidi sistemici. (31)

La maggior parte dei pazienti con IBD è sieropositiva all'infezione da CMV.

I pazienti con IBD hanno un'attività cellulare NK compromessa e difetti nell'immunità mucosale, che predispongono ad una maggiore suscettibilità alla riattivazione del CMV. Inoltre, tali pazienti sono spesso in terapia con farmaci immunosoppressivi come gli steroidi. (43)

Negli studi pubblicati non ci sono evidenze di colite da CMV nei pazienti con rettocolite ulcerosa inattiva. La riattivazione del virus latente è, infatti, più probabile durante i periodi di relapse della malattia intestinale. (43)

La letteratura più estesa riguarda i pazienti con malattia grave e/o refrattaria agli steroidi. Nei pazienti steroideo-refrattari, gli studi hanno riportato una rilevazione del CMV tramite IHC nel 20%-40% sia nelle biopsie endoscopiche che nei campioni di colectomia e una positività del CMV-DNA tramite tecniche di PCR nel 60% dei pazienti. (43)

Uno studio di Domènech con un numero limitato di soggetti coinvolti ha valutato una prevalenza di malattia da CMV del 32% tra i pazienti steroideo-resistenti. Valutando il rischio di colectomia è stato riportato un rischio del 50% (3 su 6 pazienti) tra i pazienti CMV-positivi, rispetto al 15% (2 su 13 pazienti) tra i soggetti CMV-negativi. (55)

Un ulteriore studio di Minami condotto su 23 pazienti con colite ulcerosa severa steroideo-refrattaria ha riportato un tasso di colectomia notevolmente alto dovuto al peggioramento delle condizioni cliniche: è stato riscontrato un rischio di 83.3% di colectomia nei pazienti steroideo-resistenti CMV-positivi (su 18 soggetti CMV-positivi, 15 sono stati trattati chirurgicamente). (56)

Uno studio di Matsuoka su 69 pazienti con UC moderata-severa, invece, ha evidenziato tassi di remissione e di colectomia simili tra i pazienti CMV-positivi e CMV-negativi. (57)

Studi successivi hanno riportato anche l'assenza di differenze nella gravità o nell'estensione della malattia, nei marker infiammatori o nel tempo della colectomia tra i pazienti CMV-positivi e CMV-negativi con UC severa. (43)

Tra i pazienti con UC severa, la malattia da CMV è stata rilevata più frequentemente nei pazienti anziani, nelle pazienti di sesso femminile e nei pazienti trattati con steroidi rispetto ai pazienti che non hanno mai assunto steroidi e rispetto a coloro che hanno una malattia inattiva. Poiché non ci sono dati sulla prevalenza di CMV nei pazienti in terapia con steroidi che non presentano una malattia severa, non è possibile determinare se l'uso di steroidi sia un fattore eziologico correlato alla malattia da CMV o un marker surrogato di severità della UC. (43)

Tuttavia, alcuni dati in vitro suggeriscono che gli steroidi abbiano un effetto dose-dipendente sulla soppressione della funzione delle cellule T specifiche per il CMV, ipotizzando una correlazione tra l'intensità del trattamento immunosoppressivo e la riattivazione del CMV. (58)

Inoltre altri studi evidenziano un aumento nella produzione di proteine virali precoci in seguito all'esposizione all'idrocortisone in vitro. (59)

La terapia con l'infliximab, invece, non sembra essere associata a un aumento del rischio di riattivazione del CMV nei pazienti con IBD. Inoltre neanche la malattia da CMV sembra influenzare la risposta a questa terapia biologica. (60)

Uno studio di Lavagna eseguito su 60 pazienti con malattia di Crohn in trattamento con l'infliximab ha riportato una sieroprevalenza del 70%, ma non ha evidenziato nessuna positività alla PCR del sangue durante le 14 settimane di follow-up, permettendo di concludere che non c'è associazione tra questa terapia biologica e la riattivazione a livello sistemico del virus latente. (61)

1.3.6. Il CMV e la steroideo-resistenza

Ad oggi ci sono evidenze che i pazienti con infezione da CMV e colite acuta grave siano più resistenti al trattamento con corticosteroidi rispetto ai pazienti non infetti. (47)

La resistenza agli steroidi rappresenta un ostacolo nel trattamento della malattia infiammatoria intestinale. La causa della steroideo-resistenza è ancora poco chiara, ma tra le possibili ipotesi emerge la teoria che l'infezione da citomegalovirus possa contribuire all'insorgenza della steroideo-resistenza in alcuni pazienti affetti da IBD. (62)

Una meta-analisi su diversi studi che includono un totale di 867 pazienti affetti da IBD, ha osservato che il 70% dei pazienti CMV-positivi presentava resistenza agli steroidi, rispetto al 34.5% dei pazienti CMV-negativi. Questa meta-analisi suggerisce che i pazienti affetti da IBD CMV-positivi hanno quasi il doppio del rischio di resistenza agli steroidi rispetto ai pazienti affetti da IBD CMV-negativi, indicando che l'infezione da CMV è una probabile causa di IBD steroideo-resistente. (62)

Un'ulteriore meta-analisi su 17 studi che coinvolgevano 1306 pazienti con IBD ha osservato la presenza di steroideo-resistenza nel 52.9% dei pazienti CMV-positivi contro il 30.2% nei pazienti CMV-negativi. È emerso un odds ratio di 3.63 che evidenzia che l'infezione da CMV quasi quadruplica il rischio di steroideo-resistenza nei soggetti con CMV. Anche questo studio ha dunque fatto emergere una stretta associazione tra l'infezione da CMV e le IBD steroideo-resistenti ipotizzando che l'infezione virale possa essere una causa alla base della steroideo-resistenza. (63)

1.3.7. Indicazioni alla terapia antivirale

È necessario trattare con antivirali la positività al CMV nel colon nei soggetti affetti da rettocolite ulcerosa? Ad oggi non ci sono studi conclusivi che informino se

aggiungere il ganciclovir alla terapia standard sia vantaggioso o meno sull'outcome dei pazienti. (43)

Secondo le linee guida ECCO del 2021 la colite da CMV si tratta con ganciclovir ad un dosaggio di 5 mg/kg endovena due volte al giorno per 5-10 giorni, con successivo switch a valganciclovir per via orale 900 mg al giorno fino al completamento di un ciclo di 2-3 settimane. L'evento avverso clinicamente più importante che si può verificare conseguentemente alla terapia con il ganciclovir è la soppressione midollare, in particolare la comparsa di neutropenia. (43,64)

Il foscarnet e il cidofovir sono considerati farmaci di seconda linea a causa delle loro tossicità e vengono utilizzati principalmente quando si verifica un fallimento clinico e virologico del ganciclovir.(41)

Una meta-analisi su 15 studi ha valutato la necessità della terapia antivirale nei pazienti con UC con infezione da CMV. Su 333 pazienti, 144 (43.2%) sono stati trattati con terapia antivirale e 189 (56.8%) no. Non è emersa una differenza statisticamente significativa nel rischio di colectomia tra i pazienti trattati con terapia antivirale e quelli non trattati, tranne per quanto concerne la categoria dei pazienti refrattari ai corticosteroidi, nei quali il rischio di intervento chirurgico risultava nettamente minore che nei pazienti trattati con antivirali. (65)

Uno studio che ha comparato le infezioni "lievi", definite da una positività all'IHC al CMV ma in assenza di inclusioni cellulari in H&E, e le infezioni "severe", in cui oltre alla positività all'IHC al CMV si riscontrava anche la presenza di inclusioni, ha suggerito che il trattamento antivirale risultava più efficace nei pazienti con infezione severa, determinando un tasso di colectomia inferiore. Tuttavia questi stessi risultati non sono stati ottenuti nel gruppo di pazienti con malattia lieve. (66)

Un altro studio di Wang ha valutato l'importanza del trattamento antivirale nel migliorare l'outcome dei pazienti con UC e un elevato carico virale tissutale di CMV.

In questo studio caso-controllo retrospettivo sono stati identificati 41 pazienti con rettocolite ulcerosa CMV-positivi e 24 pazienti (58.5%) sono stati trattati con antivirali per l'infezione. La terapia antivirale ha migliorato significativamente la

sopravvivenza senza intervento chirurgico a breve e lungo termine rispetto ai pazienti non trattati. Tuttavia, i tassi di ospedalizzazione, re-ospedalizzazione e mortalità sono risultati simili tra i due gruppi. (67)

Diversamente uno studio di Matsuoka su pazienti con UC moderata-severa ha riportato una risoluzione della riattivazione del CMV entro 10 settimane senza necessità di terapia antivirale, ipotizzando che la presenza di CMV nella UC severa sia transitoria e possa risolversi senza la terapia antivirale con un associato miglioramento clinico. (57)

Differenti studi che hanno valutato la risposta alla terapia antivirale nei pazienti con malattia refrattaria agli steroidi durante la riattivazione del CMV riportano una risposta del 72% (intervallo 50%-83%). Tuttavia la maggior parte di questi pazienti era stata trattata anche con ciclosporina o granulocitoafesi, e la risposta non è stata uniformemente definita nei diversi studi. Inoltre, anche i pochi pazienti segnalati che avevano rilevato il CMV ma non erano stati trattati con antivirali sono andati incontro a remissione.(43)

Una revisione della letteratura conferma che il trattamento antivirale non sia obbligatorio quando il CMV viene rilevato in campioni di biopsia o nel sangue periferico, tuttavia alcuni autori sono favorevoli all'uso del trattamento antivirale. È difficile trarre delle conclusioni sul ruolo della terapia antivirale sulla base delle evidenze disponibili ad oggi. Dagli studi fino ad ora condotti pare che la terapia antivirale debba essere principalmente considerata nel contesto della colite severa steroideo-resistente. (46)

Secondo le linee guida la sola rilevazione del CMV non dovrebbe essere considerata un'indicazione per la terapia, la quale dovrebbe essere giustificata dal contesto clinico. La terapia immunosoppressiva andrebbe interrotta in tutti i casi di malattia da CMV severa, in particolare nei casi di colite grave, meningoencefalite, polmonite o epatite. Negli altri casi in cui i sintomi della riattivazione del CMV sono limitati a livello intestinale, la terapia immunosoppressiva può essere continuata o solo modificata.

Inoltre quando si reintroduce, si prosegue o si ottimizza la terapia immunosoppressiva, i pazienti con malattia da CMV confermata dovrebbero ricevere una terapia profilattica per prevenire la ricorrenza della malattia per 4-8 settimane successivamente al completamento della terapia della fase acuta. (31)

2. SCOPO DELLO STUDIO

L'infezione da citomegalovirus è estremamente diffusa nella popolazione generale, ma nei soggetti affetti da rettocolite ulcerosa questa infezione latente può riattivarsi portando all'esacerbazione della malattia colica. L'associazione tra l'infezione da CMV e la riacutizzazione della rettocolite ulcerosa è nota da decenni, tuttavia non ci sono studi conclusivi che spieghino la natura di questa correlazione. Ad oggi non è stato inoltre definito un metodo universalmente condiviso per ricercare il CMV nei casi di riattivazione. La letteratura riporta infine conclusioni contrastanti circa la necessità di trattare l'infezione da CMV con una terapia antivirale.

Lo scopo principale di questo studio è stato quello di valutare retrospettivamente in una coorte di pazienti affetti da rettocolite ulcerosa moderata-severa con riattivazione del citomegalovirus i seguenti parametri:

- Le caratteristiche cliniche e i dati di laboratorio in corso di riattivazione
- La necessità di terapia steroidea e antivirale
- L'outcome a distanza di 6-12 mesi

3. MATERIALI E METODI

3.1 DISEGNO DELLO STUDIO

Lo studio ha valutato retrospettivamente pazienti affetti da UC seguiti dall'Unità di Gastroenterologia dell'Azienda Ospedale Università Padova da gennaio 2016 ad ottobre 2023, nei quali è stato ricercato il CMV nelle biopsie coliche eseguite in seguito ad un episodio di riacutizzazione moderata-severa della malattia.

La riattivazione della malattia è stata valutata tramite i seguenti dati: pMayo ≥ 5 e/o calprotectina fecale ≥ 250 e/o Mayo endoscopico ≥ 2 .

La valutazione della positività al CMV si è basata sul riscontro del virus a partire dalle biopsie coliche utilizzando l'ematossilina ed eosina (H&E), l'immunoistochimica (IHC) e/o la PCR su tessuto colico (almeno 1 corpo di inclusione intranucleare del CMV nelle sezioni colorate con H&E e/o la rilevazione dell'antigene precoce del CMV con colorazioni di IHC, e/o se è stata rilevata una carica virale tissutale positiva mediante PCR qualitativa su biopsie coliche). In aggiunta è stata valutata anche la presenza di DNA virale nel sangue tramite PCR. I soggetti sono stati suddivisi in due coorti in base alla positività o meno del CMV e sono stati confrontati rispetto alle differenze demografiche, alle manifestazioni cliniche, dati bioumorali ed endoscopici della riattivazione, alle terapie per UC eseguite durante la storia di malattia e in corso durante la riacutizzazione, alle necessità terapeutiche sia di tipo steroideo che antivirale per la gestione del peggioramento clinico, e all'outcome a distanza di 6-12 mesi.

3.2 DATABASE

I dati dei pazienti arruolati sono stati raccolti ed organizzati all'interno di un database, estratti dal registro "The Paduan GastroINtestinal DIsease natural HIstory REgistry: a longitudinal, retrospective and prospective study", (codice CESC: 5370/AO/22).

Abbiamo raccolto le informazioni riguardanti le caratteristiche demografiche e le notizie cliniche di ciascun paziente e le caratteristiche della patologia intestinale, come:

- Il genere, l'età alla diagnosi e al momento della riacutizzazione, l'estensione della malattia secondo la classificazione di Montreal alla diagnosi e durante la riacutizzazione;
- L'uso di corticosteroidi alla diagnosi;
- L'abitudine tabagica;
- Le comorbidità;
- Le terapie eseguite durante la storia di malattia e la terapia al momento della riacutizzazione.

Le terapie per l'UC considerate sono state la mesalazina/sulfasalazina, l'azatioprina, i biologici (infliximab, adalimumab, golimumab, vedolizumab, ustekinumab), gli anti-JAK disponibili al momento della raccolta dati (filgotinib, tofacitinib, upadacitinib) e gli steroidi.

Successivamente sono stati raccolti i dati relativi alla riacutizzazione:

- Le manifestazioni cliniche quali diarrea, rettorragia, dolore addominale e febbre;
- Il pMayo e il Mayo endoscopico;
- I valori di calprotectina, PCR ed emoglobina;
- La necessità di ospedalizzazione;
- La positività del CMV tramite IHC/H&E e qPCR sulle biopsie coliche e la positività del CMV-DNA a livello ematico con il valore della viremia;
- Il trattamento antivirale con ganciclovir e valganciclovir;
- La necessità di trattamento con terapia steroidea, il dosaggio utilizzato, la via di somministrazione e il successivo decalage;
- La terapia per la malattia successivamente alla riacutizzazione;

Infine sono stati valutati gli stessi valori bioumorali precedentemente considerati, il pMayo e Mayo endoscopico e la successiva ricerca della negativizzazione del CMV a distanza di 6-12 mesi dalla riattivazione e la necessità di una nuova terapia.

3.3 ANALISI STATISTICA

Le differenze tra i due gruppi di studio sono state valutate utilizzando il t-test per campioni indipendenti, mentre le differenze nell'analisi categorica sono state analizzate utilizzando il test del Chi-quadrato. Il confronto pre e post terapia nei soggetti CMV-positivi è stato eseguito mediante il paired t-test. Per l'analisi statistica è stato utilizzato STATA11.

La significatività statistica è stata accettata per un valore di $p < 0.05$.

4. RISULTATI

4.1 La coorte

Lo studio ha valutato retrospettivamente 203 pazienti affetti da UC moderata-severa (la malattia è stata considerata moderata-severa se presenti un valore di pMayo ≥ 5 , un valore di calprotectina fecale ≥ 250 e/o un punteggio di Mayo endoscopico ≥ 2), nel periodo in esame in cui era stata valutata la presenza di CMV.

Dei 203 pazienti inclusi, 81 pazienti (39.9%) erano di sesso femminile e 122 (60.1%) di sesso maschile. L'età media alla diagnosi è risultata di 39,9 anni $\pm 16,9$; l'età media al momento della riattivazione è risultata di 50,8 anni $\pm 16,7$. Il tempo medio dalla diagnosi alla riattivazione è risultato di 10,9 anni $\pm 9,4$.

4.2. La positività al CMV

La ricerca del CMV a livello tissutale è stata effettuata mediante la valutazione istologica o mediante PCR. A livello istologico il CMV è stato ricercato in 190 soggetti e risultato positivo in 16 pazienti (8.42%) e negativo nei restanti 174 (91.58%). La ricerca tramite PCR è stata effettuata in 57 soggetti e risultata positiva in 23 (40.35%) e negativa in 34 (59.65%).

È stato effettuato un confronto fra i risultati dell'istologia (IHC e/o H&E) e della PCR. In 31 soggetti (15.27%) entrambe le metodiche sono risultate negative ed in 7 (3.4%) entrambe sono risultate positive. In 1 soggetto (0.5%) è stata riscontrata la positività all'esame istologico ma la PCR è risultata negativa. In 12 soggetti (5.91%) la positività è stata riscontrata solamente tramite PCR ma non tramite istologia. 145 soggetti (71.42%) sono stati valutati solamente con una delle due metodiche.

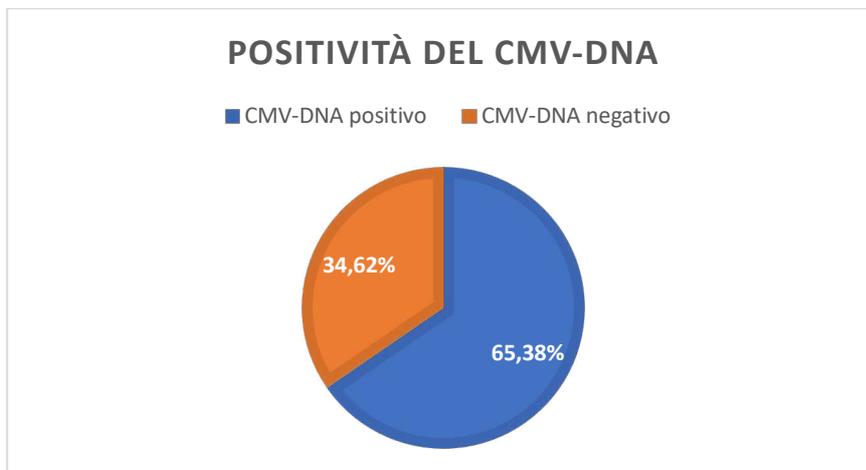
I soggetti sono stati considerati CMV-positivi se la positività è stata riscontrata all'istologia e/o alla PCR, riscontrando 32 (15.76%) pazienti CMV-positivi e 171 (84.24%) CMV-negativi (Figura 3).

Figura 3- Valutazione della positività al CMV



La viremia è stata valutata in 26/32 soggetti. Il cut-off di positività è stato posto a 1000 copie di CMV-DNA/mL di sangue. Diciassette pazienti (65.38%) sono risultati positivi, 9 (34.62%) negativi. (Figura 4)

Figura 4- Valutazione della positività al CMV-DNA



Tra i soggetti di sesso femminile la positività al CMV è stata riscontrata in 13 pazienti (16.05%), mentre tra i soggetti di sesso maschile la positività al CMV è stata riscontrata in 19 (15.57%), senza differenze statisticamente significative ($p=0.927$).

L'età media di manifestazione della riacutizzazione nei pazienti CMV-positivi era di 54,4 anni \pm 15,6, mentre nei pazienti CMV-negativi risultava di 50,1 anni \pm 16,9. (p=0.092)

Il tempo medio di manifestazione della riacutizzazione dal momento della diagnosi nei pazienti CMV-positivi risultava di 9,8 anni \pm 8,9, mentre nei pazienti CMV-negativi risultava di 11,1 anni \pm 9,5. (p=0.225)

Non è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa dell'età alla riacutizzazione e del tempo medio dalla diagnosi tra il gruppo dei pazienti positivi e negativi al CMV (p=0.092 e p=0.225 rispettivamente) (Tabella 6).

Tabella 6- Confronto del sesso, dell'età e del tempo medio dalla diagnosi alla riacutizzazione nei pazienti CMV-positivi e CMV-negativi

	CMV-positivi N=32	CMV-negativi N=171	p
Sesso			
Donne	13 (16.05%)	68 (83.95%)	
Uomini	19 (15.57%)	103 (84.43%)	0.927
Età media alla riacutizzazione	54,4 anni \pm 15,6	50,1 anni \pm 16,9	0.092
Tempo medio dalla diagnosi alla riacutizzazione	9,8 anni \pm 8,9	11,1 anni \pm 9,5	0.225

Successivamente è stata valutata la terapia in corso per l'UC al momento della riattivazione (Tabella 7).

Tra i pazienti CMV-positivi 17/32 (53.13%) assumevano una terapia immunosoppressiva/immunomodulante (azatioprina, biologici, JAK-inibitori o steroidi), mentre 15/32 (46.88%) non erano in terapia con alcun farmaco oppure assumevano solo la mesalazina. Mentre tra i pazienti CMV-negativi 88/171 (51.46%) assumevano una terapia immunosoppressiva/immunomodulante, mentre 83/171 (48.54%) non erano in terapia con alcun farmaco oppure assumevano solo la mesalazina.

Non è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa fra la terapia immunosoppressiva/immunomodulante e la positività al CMV (p=0.863).

Tabella 7- Confronto della terapia per l'UC nei pazienti CMV-positivi e CMV-negativi

Terapia in corso per l'UC al momento della riattivazione	CMV-positivi N=32	CMV-negativi N=171
Nessuna terapia	15.63%	13.45%
Mesalazina	31.25%	35.09%
Azatioprina	9.38%	5.26%
Biologici	34.38%	40.35%
JAK-inibitori	6.25%	3.51%
Steroidi	3.13%	2.34%

4.3. La valutazione clinica al momento della riattivazione

Al momento della riattivazione sono stati considerati le manifestazioni cliniche, il pMayo, i valori di calprotectina fecale, la necessità di ospedalizzazione, la terapia steroidea e antivirale somministrate per trattare la riacutizzazione ed eventuali cambiamenti terapeutici per la UC paragonandoli tra pazienti CMV positivi e negativi (Figura 5, Tabella 8).

La diarrea era presente in 30/32 soggetti (93.75%) CMV-positivi e in 128/171 soggetti CMV-negativi (74.85%), rilevando una differenza statisticamente significativa per la presenza della diarrea tra i pazienti positivi o meno al CMV ($p=0.018$).

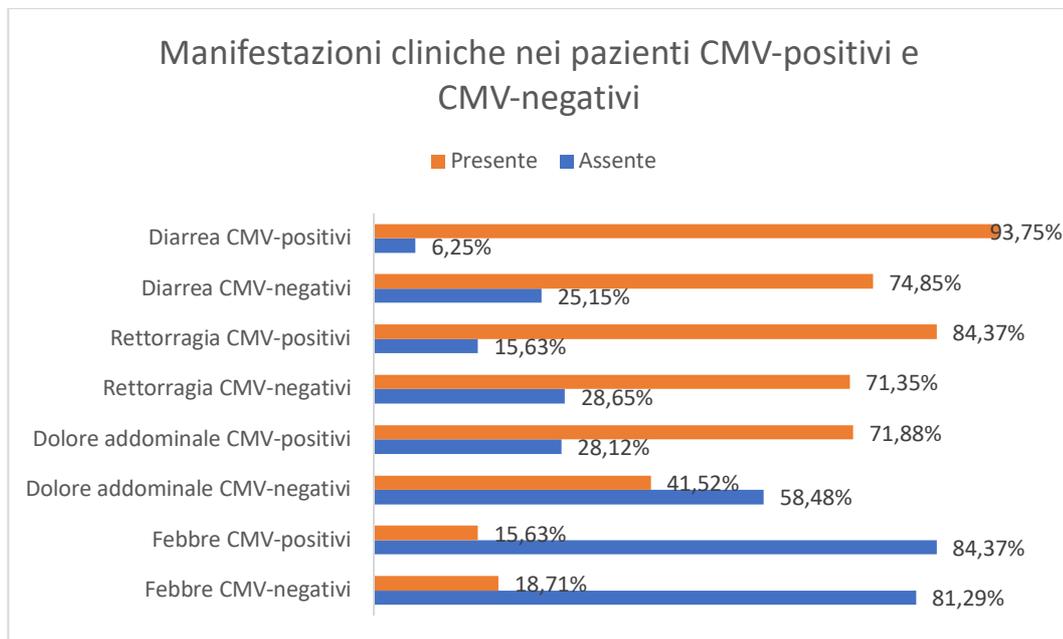
La rettorragia si è manifestata in 27/32 soggetti CMV-positivi (84.37%) e in 122/171 soggetti CMV-negativi (71.35%). Non risulta una differenza statisticamente significativa per la presenza di rettorragia tra i due gruppi ($p=0.126$).

Il dolore addominale si è manifestato in 23/32 soggetti CMV-positivi (71.88%) e in 71/171 soggetti CMV-negativi (41.52%). Emerge una differenza statisticamente

significativa per la presenza di dolore addominale tra il gruppo dei soggetti CMV-positivi e quelli CMV-negativi ($p=0.002$).

La febbre si è manifestata in 5/32 soggetti CMV-positivi (15.63 %) e in 32/171 soggetti CMV-negativi (18.71%). Non è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa di presenza di febbre tra i pazienti positivi o meno al CMV ($p=0.678$).

Figura 5- Confronto delle manifestazioni cliniche nei pazienti CMV-positivi e CMV-negativi



Il punteggio del pMayo nei pazienti CMV-positivi indicava una patologia in remissione (pMayo 0-1) in 2 pazienti (6.25%), lieve (pMayo 2-4) in 2 (6.25%), moderata (pMayo 5-6) in 5 (15.63%) e severa (pMayo 7-9) in 23 (71.88%). Nei pazienti CMV-negativi è risultata in remissione (pMayo 0-1) in 38 (22.22%), lieve (pMayo 2-4) in 26 (15.2%), moderata (pMayo 5-6) in 33 (19.3%) e severa (pMayo 7-9) in 74 (43.27%). È stata dimostrata una differenza statisticamente significativa nel valore di pMayo tra i pazienti CMV positivi e negativi ($p=0.020$).

Il valore medio della calprotectina fecale è risultato di $1436,5 \pm 1260 \mu\text{g/g}$ nei pazienti CMV-positivi e $1099,3 \pm 878,5 \mu\text{g/g}$ in quelli CMV-negativi. Non è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa fra i valori della calprotectina fecale nei due gruppi di pazienti ($p=0.108$).

L'ospedalizzazione è risultata necessaria in 30 pazienti CMV-positivi (93.75% dei positivi) e in 53 pazienti CMV-negativi (31.36% dei negativi), dimostrando una differenza statisticamente significativa di ospedalizzazione nei pazienti CMV positivi e negativi ($p \leq 0.001$). (Figura 6)

Figura 6- Confronto dell'ospedalizzazione tra i pazienti CMV-positivi e CMV-negativi

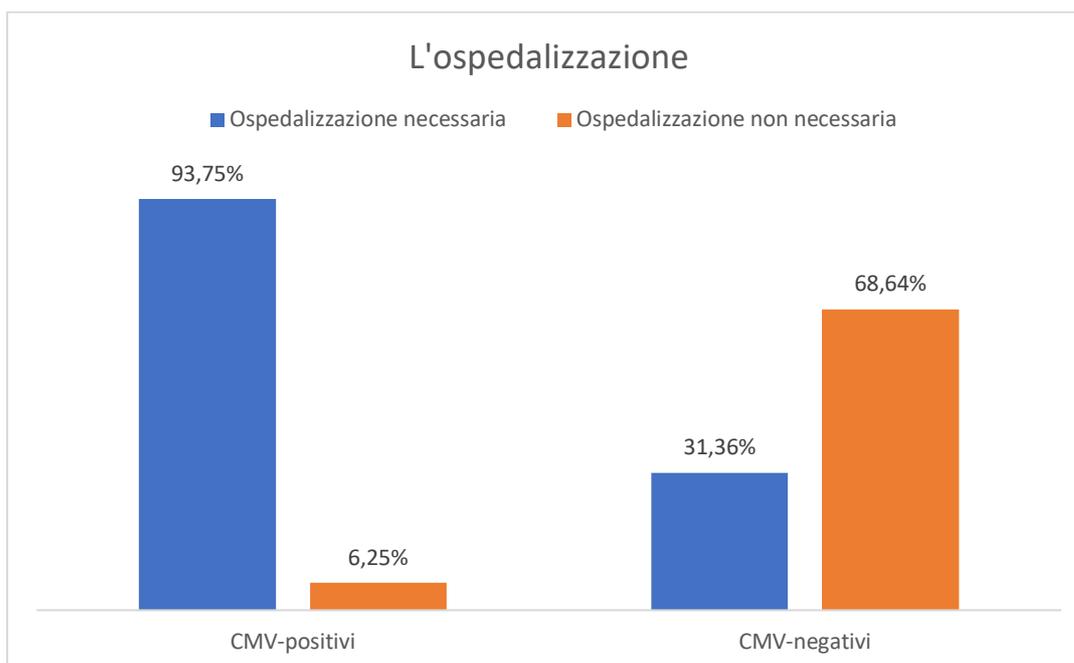


Tabella 8- Confronto delle manifestazioni cliniche, del valore di calprotectina fecale e della necessità di ospedalizzazione tra i pazienti CMV-positivi e CMV-negativi

Valutazione	alla	CMV-positivi N=32	CMV-negativi N=171	p
riacutizzazione				
Diarrea		30 (93.75%)	128 (74.85%)	0.018
Rettorragia		27 (84.37%)	122 (71.35%)	0.126
Dolore addominale		23 (71.88%)	71 (41.52%)	0.002
Febbre		5 (15.63 %)	32 (18.71%)	0.678
Calprotectina fecale		1436,5 ± 1260	1099,3 ± 878,5	0.108
pMayo:				
remissione		2 (6.25%)	38 (22.22%)	
patologia lieve		2 (6.25%)	26 (15.2%)	
patologia moderata		5 (15.63%)	33 (19.3%)	

patologia severa	23 (71.88%)	74 (43.27%)	0.020
Ospedalizzazione	93.75%	31.36%	≤0.001

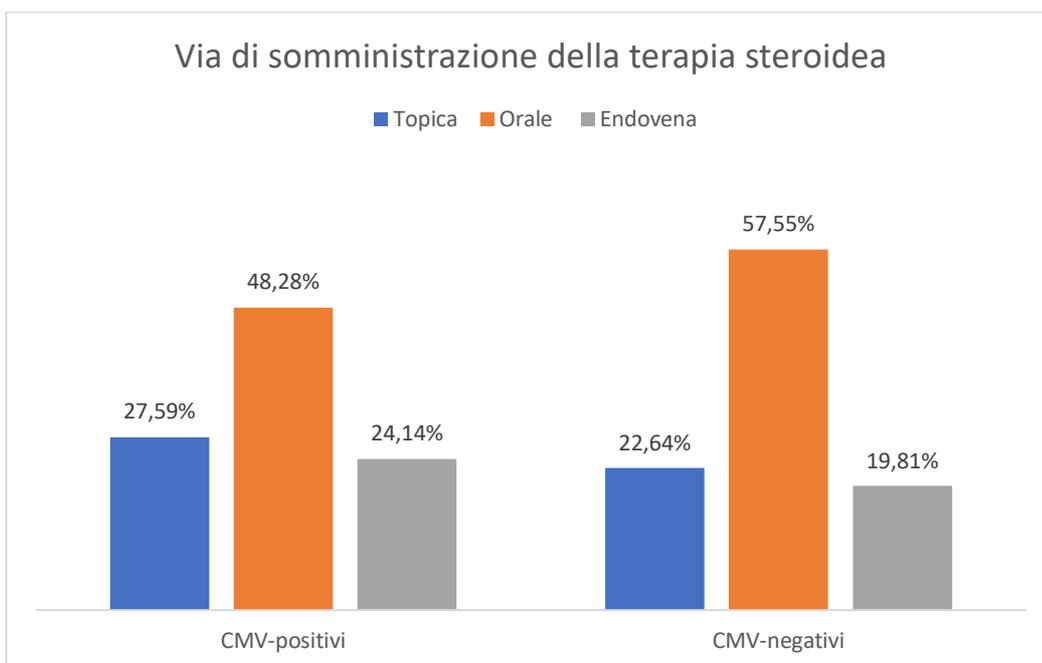
4.4. La terapia steroidea e antivirale

È stata valutata la necessità di terapia steroidea e antivirale al momento della riacutizzazione.

Il trattamento con steroidi è stato somministrato in totale a 29 pazienti CMV-positivi (90.63%) e in 106 (61.98%) pazienti CMV-negativi, riscontrando una differenza statisticamente significativa di necessità di terapia steroidea tra i pazienti CMV positivi e negativi ($p=0.005$).

Nel dettaglio nei 29 pazienti CMV-positivi trattati, la terapia steroidea è stata somministrata per via solo topica in 8 soggetti (27.59%), orale in 14 (48.28%) ed endovenosa in 7 (24.14%). Mentre nei 106 pazienti CMV-negativi trattati, la terapia steroidea è stata somministrata per via solo topica in 24 soggetti (22.64%), orale in 61 (57.55%) ed endovenosa in 21 (19.81%). (Figura 7)

Figura 7- Confronto della via di somministrazione della terapia steroidea tra i pazienti CMV-positivi e CMV-negativi



La terapia con ganciclovir (5 mg/kg x 2 volte al die) è stata prescritta in 18 pazienti, mentre la terapia con valganciclovir è stata prescritta in 25 pazienti ad un dosaggio di 900 mg due volte al die (7 soggetti hanno iniziato la terapia per os senza la terapia endovena con Ganciclovir).

La durata del trattamento con valganciclovir è stata di 14 giorni in 5 pazienti (20%), in 2 soggetti è stata somministrata per un tempo inferiore, mentre nei restanti per un tempo superiore fino ad un massimo di 90 giorni.

Successivamente alla riacutizzazione è stato necessario uno switch terapeutico in 22 soggetti CMV-positivi (71% dei positivi) e in 95 soggetti CMV-negativi (55.9% dei negativi), mentre il ricorso alla terapia chirurgica è risultato necessario in 5 soggetti CMV-positivi (16.1% dei positivi) e in 13 soggetti CMV-negativi (7.65% dei negativi). I restanti 4 soggetti CMV-positivi (12.9% dei positivi) e 62 CMV-negativi (36.45% dei negativi) hanno mantenuto la terapia in corso prima della riacutizzazione per la UC.

È stata pertanto riscontrata una differenza statisticamente significativa tra i due gruppi CMV-positivi e CMV-negativi per la necessità di uno switch terapeutico o di terapia chirurgica ($p=0.023$).

4.5. La rivalutazione a distanza dalla riacutizzazione

A distanza di 6-12 mesi dalla riacutizzazione i pazienti sono stati valutati a livello clinico, biumorale ed endoscopico.

Il pMayo è stato confrontato in 156 soggetti durante la riacutizzazione e a distanza. Il punteggio medio alla riacutizzazione risultava di $5,7 \pm 2,8$, mentre a distanza di 6-12 mesi risultava di $2,3 \pm 2,5$, rilevando una riduzione statisticamente significativa post trattamento ($p \leq 0,001$).

Dal punto di vista biumorale è stato confrontato in 105 soggetti il valore di calprotectina fecale durante la riacutizzazione e a distanza. Il valore medio alla riacutizzazione risultava di $1186,2 \pm 988,3$ $\mu\text{g/g}$, mentre a distanza di 6-12 mesi risultava di $631,3 \pm 432,2$ $\mu\text{g/g}$. È stata riscontrata una riduzione statisticamente significativa post trattamento ($p=0.001$).

Infine la ricerca del CMV è stata effettuata in 16 soggetti entro i 6 mesi successivi:
15 (93.75%) risultavano negativizzati mentre 1 (6.25%) ancora positivo.

5. DISCUSSIONE

Lo studio ha valutato la riattivazione del CMV in pazienti con UC moderata-severa. Tra i 203 soggetti inclusi, la positività al CMV è stata riscontrata in 32 pazienti (15.76%).

Non è emersa una differenza statisticamente significativa di genere, età alla diagnosi ed età al momento della riacutizzazione tra i pazienti CMV-positivi e CMV-negativi, nonostante dalla letteratura sia noto che tra i fattori associati ad un aumentato rischio di riattivazione del CMV nelle IBD vi siano il sesso femminile e l'età avanzata. (49,50)

La riattivazione del CMV si è manifestata in egual modo tra i pazienti sottoposti a terapia immunosoppressiva e quelli non in trattamento con tali farmaci. Questo conferma il dato noto e descritto da D'Ovidio che la terapia con l'infliximab non aumenta il rischio di riattivazione del CMV. (60)

La diagnosi di colite da CMV nei pazienti presi in esame, che presentavano dunque una riacutizzazione moderato-severa, è stata basata sulla positività ad almeno uno dei due test utilizzati su biopsie coliche: IHC/H&E e PCR. Attualmente le linee guida ECCO del 2021 suggeriscono l'utilizzo di IHC e/o PCR per la diagnosi, pur non essendo ancora stato stabilito un valore soglia per nessuna delle due metodiche che giustifichi il successivo trattamento antivirale. (43,64)

In questo studio il CMV è stato ricercato tramite IHC/H&E in 190 soggetti e tramite PCR in 57 soggetti. Solo in 7 pazienti entrambe le metodiche sono risultate positive. In 12 soggetti è stata riscontrata una positività alla PCR nonostante l'istologia fosse negativa. 145 soggetti sono stati testati solamente con una metodica.

Il DNA quantitativo del CMV nel siero è stato testato in 26 pazienti e in 17 pazienti (65.38%) sono state rilevate >1000 copie/mL. Tuttavia neanche per quanto riguarda il CMV-DNA è stato definito in letteratura un livello soglia che permetta di discriminare tra infezione e malattia attiva. (43)

Dal punto di vista clinico, il nostro studio dimostra che i pazienti CMV-positivi presentano un quadro clinico più severo, caratterizzato da maggiore diarrea e dolore

addominale ($p=0.018$ e $p=0.002$ rispettivamente), mentre non si riscontra una differenza significativa in termini di presenza di febbre e rettorragia ($p=0.678$ e $p=0.126$ rispettivamente). Il pMayo conferma una maggior severità clinica nei pazienti CMV-positivi, tra i quali il 71.88% presentava un valore di pMayo di 7-9, rispetto al 43.27% tra i pazienti CMV-negativi ($p=0.020$).

Il valore medio della calprotectina è risultato lievemente più elevato nei soggetti CMV-positivi ($1436.5 \pm 1260 \mu\text{g/g}$) rispetto ai soggetti CMV-negativi ($1099.3 \pm 878.5 \mu\text{g/g}$), ma non è stata riscontrata una differenza statisticamente significativa fra i due gruppi ($p=0.1080$).

Nei soggetti CMV-positivi l'ospedalizzazione si è resa necessaria nel 93.75% dei pazienti, rispetto al 31.36% dei soggetti CMV-negativi ($p \leq 0.001$). I pazienti CMV-positivi presentano una malattia clinicamente e bioumoralmente più severa, necessitano di una terapia antivirale con ganciclovir endovena che può essere somministrata solamente all'interno di un reparto ospedaliero e vanno incontro più frequentemente a chirurgia. Questi fattori spiegano la maggior necessità di ospedalizzazione nei pazienti CMV-positivi rispetto a quelli CMV-negativi. Tali dati sono stati dimostrati dallo studio di Kwon, che conferma che la colite da CMV aumenta la necessità di ospedalizzazione, i costi ospedalieri e la durata della degenza nei pazienti CMV-positivi con IBD rispetto ai pazienti non CMV-negativi. La positività al CMV è, infatti, un indicatore prognostico nei pazienti con IBD, che si associa ad una maggior severità e maggior durata di malattia. (44,68)

La terapia con steroidi è risultata necessaria nella maggior parte dei pazienti CMV-positivi (87.5%), rispetto al gruppo dei CMV-negativi, in cui è stata necessaria solo nel 57.53% dei soggetti ($p=0.005$). In entrambi i gruppi la via di somministrazione più utilizzata è stata quella orale (48.28% nei pazienti CMV-positivi e 57.55% nei pazienti CMV-negativi). La via topica e la somministrazione endovenosa sono state utilizzate in uguali percentuali tra loro e tra i due gruppi. Nel nostro studio non si evince una steroido-resistenza dei pazienti CMV positivi, cosa nota in letteratura. (47)

La terapia con ganciclovir endovena (5 mg/kg x 2 volte al die) è stata prescritta in 18 pazienti CMV-positivi, mentre la terapia con valganciclovir in 25 pazienti. I 18

pazienti a cui è stata prescritta la terapia endovena presentavano una riacutizzazione più severa e hanno continuato successivamente con l'assunzione della terapia per via orale in seguito alla dimissione ospedaliera. I 7 pazienti che hanno assunto solamente la terapia per via orale manifestavano una riacutizzazione più lieve.

La necessità di uno switch terapeutico rispetto alla terapia precedente alla riacutizzazione è stata maggiore nel gruppo dei pazienti CMV-positivi (70.97%) rispetto ai pazienti CMV-negativi (55.88%). Allo stesso modo anche il ricorso al trattamento chirurgico è risultato maggiore nel gruppo dei pazienti CMV-positivi (16.13%) rispetto ai pazienti CMV-negativi (7.65%). Lo studio dimostra un impatto dell'infezione nella scelta di cambio terapeutico, verosimilmente sempre correlato ad una maggior severità di presentazione.

La letteratura al riguardo riporta risultati contrastanti. Uno studio di Matsuoka evidenzia tassi di colectomia simili tra i pazienti CMV-positivi e CMV-negativi. Gli studi di Domènech e Minami che hanno valutato pazienti CMV-positivi steroide-resistenti, invece, riportano tassi di colectomia maggiori rispetto ai pazienti CMV-negativi. (55–57)

Durante la riacutizzazione il pMayo indicava una malattia moderato-severa, con un punteggio medio di 5.7 ± 2.8 , mentre a distanza di 6-12 mesi si nota un miglioramento clinico, che si rispecchia in un punteggio di 2.3 ± 2.5 . Similmente anche i valori di calprotectina sono risultati in netto miglioramento nel periodo successivo alla riacutizzazione. Sia il punteggio di pMayo che la calprotectina fecale presentano una differenza statisticamente significativa fra il valore alla riattivazione del CMV e il valore successivo alla risoluzione della fase acuta ($p \leq 0,001$ e $p = 0.001$ rispettivamente).

Venticinque soggetti sono stati rivalutati endoscopicamente a distanza di 6-12 mesi e nel 68% di questi persisteva un'attività moderata-severa. La rivalutazione della positività a livello tissutale del CMV è stata ricercata in 16 soggetti, e nel 93.75% è stato possibile osservare una negativizzazione.

Forze e limiti dello studio

La numerosità del campione di questo studio monocentrico risulta rilevante. Lo studio ha valutato i soggetti inclusi in modo retrospettivo, motivo per cui alcuni dati risultano incompleti e il follow-up dei pazienti non è stato effettuato in egual modo

in tutti i pazienti. I dati biomorali provenivano in alcuni pazienti da laboratori diversi, presentando dunque valori di norma differenti. Dal punto di vista diagnostico la maggior parte dei soggetti è stata testata solamente con una tecnica. Tuttavia la letteratura sembrerebbe affermare che la valutazione istologica possa essere superiore rispetto alla ricerca con la sola PCR qualitativa nella valutazione del coinvolgimento del CMV nella malattia e che il significato della sola positività della PCR in assenza delle caratteristiche istologiche della malattia da CMV non è ancora ben chiaro. (43)

I pazienti, inoltre, sono stati trattati secondo schemi terapeutici differenti. La maggior parte dei soggetti è stata trattata con ganciclovir endovena per 3-5 giorni e successivamente con valganciclovir per via orale. L'efficacia della terapia antivirale si è basata principalmente sul miglioramento clinico dei soggetti: in soli 16 pazienti su 32 è stato ricercato il CMV a livello tissutale successivamente.

Saranno necessari ulteriori studi per definire in modo universale le metodiche diagnostiche e lo schema terapeutico da adottare nelle riacutizzazioni di UC con positività al CMV. Risulta necessario stabilire un livello soglia della PCR a livello tissutale che definisca una positività al CMV che necessita di trattamento. Inoltre sarebbe utile in futuro definire ulteriormente il ruolo della ricerca del CMV-DNA nel siero dei pazienti. Necessita di una standardizzazione anche il follow-up, con la valutazione endoscopica e la ricerca della negativizzazione del CMV a livello tissutale. È necessario definire in modo univoco anche la durata e i dosaggi della terapia antivirale e l'eventuale necessità di una terapia profilattica per prevenire la riattivazione del CMV.

6. CONCLUSIONI

I pazienti affetti da UC sono a rischio di colite da CMV. La riattivazione del virus determina una riacutizzazione più severa e una maggior necessità di trattamento con steroidi e di ospedalizzazione. I fattori determinati questa necessità potrebbero essere la necessità di terapia antivirale endovena, un' aumentata necessità di terapia steroidea sistemica e un aumentato rischio di trattamento chirurgico rispetto ai pazienti non infetti.

Il genere, l'età alla diagnosi e alla riacutizzazione e la terapia immunosoppressiva/immunomodulante non sono risultati fattori di rischio per la riattivazione del CMV. Le metodiche diagnostiche e lo schema terapeutico nei pazienti IBD non sono ancora universalmente condivisi e standardizzati, tuttavia riteniamo che la combinazione della valutazione istologica e PCR su biopsie coliche, insieme con la valutazione clinica, possa garantire una corretta gestione del paziente.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Magro F, Gionchetti P, Eliakim R, Ardizzone S, Armuzzi A, Barreiro-de Acosta M, et al. Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 1: Definitions, Diagnosis, Extra-intestinal Manifestations, Pregnancy, Cancer Surveillance, Surgery, and Ileo-anal Pouch Disorders. *J Crohns Colitis*. 1 giugno 2017;11(6):649–70.
2. Zhao M, Gönczi L, Lakatos PL, Burisch J. The Burden of Inflammatory Bowel Disease in Europe in 2020. *J Crohns Colitis*. 25 settembre 2021;15(9):1573–87.
3. De Souza HSP, Fiocchi C. Immunopathogenesis of IBD: current state of the art. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. gennaio 2016;13(1):13–27.
4. Ng SC, Bernstein CN, Vatn MH, Lakatos PL, Loftus Jr EV, Tysk C, et al. Geographical variability and environmental risk factors in inflammatory bowel disease.
5. Rook GAW. *Hygiene Hypothesis and Autoimmune Diseases*. 2012;
6. Nathan C. Epidemic Inflammation: Pondering Obesity. *Mol Med*. luglio 2008;14(7–8):485–92.
7. Blain A et al. ORIGINAL ARTICLE: Crohn’s disease clinical course and severity in obese patients.
8. Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, et al. A Genome-Wide Association Study Identifies *IL23R* as an Inflammatory Bowel Disease Gene. *Science*. dicembre 2006;314(5804):1461–3.
9. The International IBD Genetics Consortium (IIBDGC), Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, et al. Host–microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*. novembre 2012;491(7422):119–24.
10. Dominguez-Bello MG, Blaser MJ, Ley RE, Knight R. Development of the Human Gastrointestinal Microbiota and Insights From High-Throughput Sequencing. *Gastroenterology*. maggio 2011;140(6):1713–9.
11. Chassaing B, Darfeuille–Michaud A. The Commensal Microbiota and Enteropathogens in the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Diseases. *Gastroenterology*. maggio 2011;140(6):1720-1728.e3.
12. Bruce A, Black M, Bhattacharya S. Mode of Delivery and Risk of Inflammatory Bowel Disease in the Offspring: Systematic Review and Meta-analysis of Observational Studies. *Inflamm Bowel Dis*. luglio 2014;20(7):1217–26.
13. Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol*. novembre 2009;9(11):799–809.

14. Wyatt J, Vogelsang H, Hübl W, Waldhoer T, Lochs H. Intestinal permeability and the prediction of relapse in Crohn's disease. *The Lancet*. 5 giugno 1993;341(8858):1437–9.
15. Takahashi F, Das KM. Isolation and characterization of a colonic autoantigen specifically recognized by colon tissue-bound immunoglobulin G from idiopathic ulcerative colitis. *J Clin Invest*. 1 luglio 1985;76(1):311–8.
16. Halstensen TS, Das KM, Brandtzaeg P. Epithelial deposits of immunoglobulin G1 and activated complement colocalise with the M(r) 40 kD putative autoantigen in ulcerative colitis. *Gut*. 1 maggio 1993;34(5):650–7.
17. Geng X, Biancone L, Dai HH, Dasgupta A, Pallone F, Das KM. Tropomyosin Isoforms in Intestinal Mucosa: Production of Autoantibodies to Tropomyosin Isoforms in Ulcerative Colitis. 1998;114(5).
18. Duerr RH, Targan SR, Landers CJ, Larusso NF, Lindsay KL, Wiesner RH, et al. Neutrophil Cytoplasmic Antibodies: A Link Between Primary Sclerosing Cholangitis and Ulcerative Colitis. *Gastroenterology*. maggio 1991;100(5):1385–91.
19. Ina K, Itoh J, Fukushima K, Kusugami K, Yamaguchi T, Kyokane K, et al. Resistance of Crohn's disease T cells to multiple apoptotic signals is associated with a Bcl-2/Bax mucosal imbalance. *J Immunol Baltim Md* 1950. 15 luglio 1999;163(2):1081–90.
20. Shen C, Assche GV, Colpaert S, Maerten P, Geboes K, Rutgeerts P, et al. Adalimumab induces apoptosis of human monocytes: a comparative study with infliximab and etanercept. *Aliment Pharmacol Ther*. febbraio 2005;21(3):251–8.
21. Ordás I, Eckmann L, Talamini M, Baumgart DC, Sandborn WJ. Ulcerative colitis. *The Lancet*. novembre 2012;380(9853):1606–19.
22. Monsén U, Broström O, Nordenvall B, Sörstad J, Hellers G. Prevalence of Inflammatory Bowel Disease among Relatives of Patients with Ulcerative Colitis. *Scand J Gastroenterol*. 1 gennaio 1987;22(2):214–8.
23. Tysk C, Lindberg E, Jarnerot G, Floderus-Myrhed B. Ulcerative colitis and Crohn's disease in an unselected population of monozygotic and dizygotic twins. A study of heritability and the influence of smoking. *Gut*. 1 luglio 1988;29(7):990–6.
24. Impact of cessation of smoking on the course of ulcerative colitis - PubMed [Internet]. [citato 9 maggio 2024]. Disponibile su: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11467641/>
25. Rodríguez LAG, Ruigómez A, Panés J. Acute Gastroenteritis Is Followed by an Increased Risk of Inflammatory Bowel Disease. 2006;130(6).
26. Kucharzik T, Koletzko S, Kannengießer K, Dignaß A. Ulcerative Colitis—

Diagnostic and Therapeutic Algorithms. Dtsch Ärztebl Int [Internet]. 17 agosto 2020 [citato 7 maggio 2024]; Disponibile su: <https://www.aerzteblatt.de/10.3238/arztebl.2020.0564>

27. Conrad K, Roggenbuck D, Laass MW. Diagnosis and classification of ulcerative colitis. *Autoimmun Rev.* aprile 2014;13(4–5):463–6.

28. Lewis JD, Chuai S, Nessel L, Lichtenstein GR, Aberra FN, Ellenberg JH. Use of the noninvasive components of the mayo score to assess clinical response in Ulcerative Colitis: *Inflamm Bowel Dis.* dicembre 2008;14(12):1660–6.

29. Travis SPL, Schnell D, Krzeski P, Abreu MT, Altman DG, Colombel JF, et al. Developing an instrument to assess the endoscopic severity of ulcerative colitis: the Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity (UCEIS). *Gut.* aprile 2012;61(4):535–42.

30. Info MAYO | Partial [Internet]. [citato 25 maggio 2024]. Disponibile su: <https://www.igibdscores.it/it/info-mayo-partial.php>

31. Authors, Collaborators: Updated S3-Guideline Ulcerative Colitis. German Society for Digestive and Metabolic Diseases (DGVS): AWMF Registry 021/009. *Z Für Gastroenterol.* febbraio 2019;57(02):162–241.

32. Lu X, Jarrett J, Sadler S, Tan M, Dennis J, Jairath V. Comparative efficacy of advanced treatments in biologic-naïve or biologic-experienced patients with ulcerative colitis: a systematic review and network meta-analysis. *Int J Clin Pharm.* aprile 2023;45(2):330–41.

33. Colite ulcerosa, upadacitinib ottiene la rimborsabilità in Italia - Osservatorio Malattie Rare [Internet]. [citato 9 maggio 2024]. Disponibile su: <https://www.osservatoriomalattierare.it/altre-malattie-croniche/20034-colite-ulcerosa-upadacitinib-ottiene-la-rimborsabilita-in-italia>

34. Chae K, Seo YS, Yu YM, Chang MJ, Choi J. An indirect comparison of efficacy including histologic assessment and safety in biologic therapy in ulcerative colitis: Systemic review and network meta-analysis. Venson R, curatore. *PLOS ONE.* 2 novembre 2023;18(11):e0293655.

35. Peyrin-Biroulet L, Sandborn W, Sands BE, Reinisch W, Bemelman W, Bryant RV, et al. Selecting Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease (STRIDE): Determining Therapeutic Goals for Treat-to-Target. *Am J Gastroenterol.* settembre 2015;110(9):1324–38.

36. Sands BE, Peyrin-Biroulet L, Loftus EV, Danese S, Colombel JF, Törüner M, et al. Vedolizumab versus Adalimumab for Moderate-to-Severe Ulcerative Colitis. *N Engl J Med.* 26 settembre 2019;381(13):1215–26.

37. Magro F, Gionchetti P, Eliakim R, Ardizzone S, Armuzzi A, Barreiro-de Acosta M, et al. Third European Evidence-based Consensus on Diagnosis and Management of Ulcerative Colitis. Part 1: Definitions, Diagnosis, Extra-intestinal

Manifestations, Pregnancy, Cancer Surveillance, Surgery, and Ileo-anal Pouch Disorders. *J Crohns Colitis*. 1 giugno 2017;11(6):649–70.

38.Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JF. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis.

39.Ulcerative Colitis and Colorectal Cancer: A Population-Based Study: *New England Journal of Medicine*: Vol 323, No 18 [Internet]. [citato 9 maggio 2024]. Disponibile su: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199011013231802>

40.Krech U. Complement-fixing antibodies against cytomegalovirus in different parts of the world.

41.Dioverti MV, Razonable RR. Cytomegalovirus. Hayden RT, Wolk DM, Carroll KC, Tang YW, curatori. *Microbiol Spectr*. 12 agosto 2016;4(4):4.4.20.

42.Garrido E. Clinical significance of cytomegalovirus infection in patients with inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2013;19(1):17.

43.Lawlor G, Moss AC. Cytomegalovirus in inflammatory bowel disease: Pathogen or innocent bystander?: *Inflamm Bowel Dis*. settembre 2010;16(9):1620–7.

44.Kwon J, Fluxá D, Farraye FA, Kröner PT. Cytomegalovirus-related colitis in patients with inflammatory bowel disease. *Int J Colorectal Dis*. marzo 2022;37(3):685–91.

45.Powell RD, Warner NE, Levine RS, Kirsner JB. Cytomegalic inclusion disease and ulcerative colitis: Report of a case in a young adult. *Am J Med*. 1961;30(2):334–40.

46.Criscuoli V, Rizzuto MR, Cottone M. Cytomegalovirus and inflammatory bowel disease: Is there a.

47.Mourad FH, Hashash JG, Kariyawasam VC, Leong RW. Ulcerative Colitis and Cytomegalovirus Infection: From A to Z. *J Crohns Colitis*. 7 settembre 2020;14(8):1162–71.

48.Nowacki TM, Bettenworth D, Meister T, Heidemann J, Lenze F, Schmidt HH, et al. Novel score predicts risk for cytomegalovirus infection in ulcerative colitis. *J Clin Virol*. agosto 2018;105:103–8.

49.Kishore J, Ghoshal U, Ghoshal UC, Krishnani N, Kumar S, Singh M, et al. Infection with cytomegalovirus in patients with inflammatory bowel disease: prevalence, clinical significance and outcome. *J Med Microbiol*. 1 novembre 2004;53(11):1155–60.

50.Gauss A, Rosenstiel S, Schnitzler P, Hinz U, Rehlen T, Kadmon M, et al. Intestinal cytomegalovirus infection in patients hospitalized for exacerbation of inflammatory bowel disease: a 10-year tertiary referral center experience. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. giugno 2015;27(6):712–20.

51. Yoshino T, Nakase H, Ueno S, Uza N, Inoue S, Mikami S, et al. Usefulness of quantitative real-time PCR assay for early detection of cytomegalovirus infection in patients with ulcerative colitis refractory to immunosuppressive therapies: *Inflamm Bowel Dis.* dicembre 2007;13(12):1516–21.
52. Oh SJ, Lee CK, Kim YW, Jeong SJ, Park YM, Oh CH, et al. True cytomegalovirus colitis is a poor prognostic indicator in patients with ulcerative colitis flares: the 10-year experience of an academic referral inflammatory bowel disease center. *Scand J Gastroenterol.* 3 agosto 2019;54(8):976–83.
53. Lopes S, Andrade P, Conde S, Liberal R, Dias CC, Fernandes S, et al. Looking into Enteric Virome in Patients with IBD: Defining Guilty or Innocence? *Inflamm Bowel Dis.* agosto 2017;23(8):1278–84.
54. Rahier JF, Ben-Horin S, Chowers Y, Conlon C, De Munter P, D’Haens G, et al. European evidence-based Consensus on the prevention, diagnosis and management of opportunistic infections in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis.* giugno 2009;3(2):47–91.
55. Domènech E, Vega R, Ojanguren I, Hernández Á, Garcia-Planella E, Bernal I, et al. Cytomegalovirus infection in ulcerative colitis: A prospective, comparative study on prevalence and diagnostic strategy: *Inflamm Bowel Dis.* ottobre 2008;14(10):1373–9.
56. Minami M. Cytomegalovirus infection in severe ulcerative colitis patients undergoing continuous intravenous cyclosporine treatment in Japan. *World J Gastroenterol.* 2007;13(5):754.
57. Matsuoka K, Iwao Y, Mori T, Sakuraba A, Yajima T, Hisamatsu T, et al. Cytomegalovirus Is Frequently Reactivated and Disappears Without Antiviral Agents in Ulcerative Colitis Patients. *Off J Am Coll Gastroenterol ACG* [Internet]. 2007;102(2). Disponibile su: https://journals.lww.com/ajg/fulltext/2007/02000/cytomegalovirus_is_frequently_reactivated_and.17.aspx
58. Widmann T, Sester U, Gärtner BC, Schubert J, Pfreundschuh M, Köhler H, et al. Levels of CMV Specific CD4 T Cells Are Dynamic and Correlate with CMV Viremia after Allogeneic Stem Cell Transplantation. *Stevenson PG, curatore. PLoS ONE.* 4 novembre 2008;3(11):e3634.
59. Forbes BA, Bonville CA, Dock NL. The Effects of a Promoter of Cell Differentiation and Selected Hormones on Human Cytomegalovirus Infection Using an In Vitro Cell System. *J Infect Dis.* 1 luglio 1990;162(1):39–45.
60. D’Ovidio V, Vernia P, Gentile G, Capobianchi A, Marcheggiano A, Viscido A, et al. Cytomegalovirus infection in inflammatory bowel disease patients undergoing anti-TNF α therapy. *J Clin Virol.* ottobre 2008;43(2):180–3.
61. Lavagna A, Bergallo M, Daperno M, Sostegni R, Costa C, Leto R, et al.

Infliximab and the risk of latent viruses reactivation in active Crohn's disease: *Inflamm Bowel Dis.* luglio 2007;13(7):896–902.

62. Wu X wei, Wu L, Ji H zan, Wang F yu. Relationship Between Cytomegalovirus Infection and Steroid Resistance in Inflammatory Bowel Disease: A Meta-Analysis. *Dig Dis Sci.* novembre 2015;60(11):3203–8.

63. Lv Y li, Han F fei, Jia Y jie, Wan Z rui, Gong L li, Liu H, et al. Is cytomegalovirus infection related to inflammatory bowel disease, especially steroid-resistant inflammatory bowel disease? A meta-analysis. *Infect Drug Resist.* dicembre 2017;Volume 10:511–9.

64. Kucharzik T, Ellul P, Greuter T, Rahier JF, Verstockt B, Abreu C, et al. ECCO Guidelines on the Prevention, Diagnosis, and Management of Infections in Inflammatory Bowel Disease. *J Crohns Colitis.* 22 giugno 2021;15(6):879–913.

65. Shukla T, Singh S, Loftus EV, Bruining DH, McCurdy JD. Antiviral Therapy in Steroid-refractory Ulcerative Colitis with Cytomegalovirus: Systematic Review and Meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis.* novembre 2015;21(11):2718–25.

66.(77) 1004 Severity of Cytomegalovirus Infection on Pathology Specimens is Associated With Colectomy Rates and Response to Antiviral Therapy in Inflammatory Bowel Disease Patients | Minh Nguyen - Academia.edu [Internet]. [citato 11 maggio 2024]. Disponibile su: https://www.academia.edu/11757502/1004_Severity_of_Cytomegalovirus_Infection_on_Pathology_Specimens_is_Associated_With_Colectomy_Rates_and_Response_to_Antiviral_Therapy_in_Inflammatory_Bowel_Disease_Patients

67. Wang Y, Aggarwal P, Liu X, Lu H, Lian L, Wu X, et al. Antiviral Treatment for Colonic Cytomegalovirus Infection in Ulcerative Colitis Patients Significantly Improved Their Surgery Free Survival. *J Clin Gastroenterol.* aprile 2018;52(4):e27–31.

68. Zhang WX, Ma CY, Zhang JG, He F, Liu QM, Cheng A, et al. Effects of cytomegalovirus infection on the prognosis of inflammatory bowel disease patients. *Exp Ther Med.* novembre 2016;12(5):3287–93.