Supplemento n° 2 alla rivista ReAdFiles n° 2 giugno 2018. Anno 19

Il backbone: la solidità della storia come promessa per il futuro

a cura di Andrea De Luca e Maurizio Zazzi

Gli NRTI nella terapia antiretrovirale e lo sviluppo di resistenza

Resistenze acquisite e trasmesse

Ruolo clinico della resistenza pregressa

Studi NRTI-sparing: risultati e farmacoresistenza al fallimento

Il backbone NRTI e la forgiveness dei regimi antiretrovirali

La durability delle terapie duplici

Immunoattivazione e ageing

HIV DNA e viremia residua

Penetrazione farmacologica nei santuari e trasmissione di HIV

Poste Italiane Spa - Spedizione in Abbonamento Postale - 70% - LO/MI

effetti editore

EDITORE
Effetti srl - Via Giorgini, 16 - 20151 Milano
www.readfiles.it - readfiles@effetti.it
Tel. 02 3343281 - Fax 02 38002105
Direttore Responsabile: **F. Tacconi**
Coordinamento Scientifico: **A. Lazzarin**
Coordinamento Redazionale: **L. Annovazzi, A. Invernizzi, M. Luciani**
Direzione grafica: **Effetti srl**
Impaginazione: **G. Lucchini**
Segreteria di Redazione: **F. Rebora, E. Valli**
Stampa: **Magicgraph srl, Busto Arsizio (VA)**

ISBN: 9788899343460

© Effetti srl 2018
Tutti i diritti di riproduzione, traduzione e adattamento parziale o totale, con qualunque mezzo, sono riservati.

Indice

Il backbone nucleosidico: la solidità della storia come promessa per il futuro p. 5

Gli NRTI nella terapia antiretrovirale p. 6

Pattern di resistenza agli NRTI p. 7

Andamento delle resistenze acquisite p. 7

Le resistenze trasmesse p. 8

Gli NRTI nella PrEP p. 9

Ruolo clinico della resistenza pregressa p. 9

Gli NRTI nel presente e futuro della terapia antiretrovirale p. 11

Overview e commento dei dati clinici p. 13

I risultati degli studi NRTI-sparing p. 13

Terapie a meno NRTI e farmacoresistenza al fallimento p. 16

Il backbone NRTI e la forgiveness dei regimi antiretrovirali p. 16

La durability delle terapie duplici p. 17

Immunoattivazione, ageing e terapie triplici vs NRTI-sparing o reducing p. 18

HIV DNA e viremia residua p. 19

Santuari: rilevanza della penetrazione farmacologica p. 19

Il compartimento neurologico p. 20

Apparato genitale e trasmissione di HIV p. 21

Conclusioni p. 21

Bibliografia p. 22

Il backbone nucleosidico: la solidità della storia come promessa per il futuro

Maurizio Zazzi

*Gli inibitori nucleosidici e nucleotidici della trascrittasi (NRTI) sono stati la prima classe di antiretrovirali approvata per uso clinico. Dalla registrazione della zidovudina nel marzo 1987, altri sette composti sono entrati in uso clinico in un periodo di 16 anni, fino all'approvazione di emtricitabina nel 2003 (**Tabella 1**).*

Tabella 1 **Gli NRTI e le combinazioni contenenti NRTI di uso clinico, in ordine cronologico di approvazione FDA**

Denominazione	Tipologia	NRTI	Data di approvazione FDA
AZT	Singolo NRTI	Zidovudina	19/03/1987
ddC	Singolo NRTI	Zalcitabina	19/06/1992
d4T	Singolo NRTI	Stavudina	24/06/1994
3TC	Singolo NRTI	Lamivudina	17/11/1995
3TC+AZT	Coppia di NRTI	Lamivudina e zidovudina	27/09/1997
ABC	Singolo NRTI	Abacavir	17/12/1998
ddI	Singolo NRTI	Didanosina	31/10/2000
ABC/3TC/AZT	Triplo NRTI	Abacavir, zidovudina e lamivudina	14/11/2000
TDF	Singolo NRTI	Tenofovir disoproxil fumarato	26/10/2001
FTC	Singolo NRTI	Emtricitabina	02/07/2003
ABC/3TC	Coppia di NRTI	Abacavir e lamivudina	02/08/2004
TDF/FTC	Coppia di NRTI	Tenofovir disoproxil fumarato e emtricitabina	02/08/2004
EFV/TDF/FTC	Coppia di NRTI associata ad un NNRTI	Tenofovir disoproxil fumarato, emtricitabina e efavirenz	12/07/2006
RPV/FTC/TDF	Coppia di NRTI associata ad un NNRTI	Tenofovir disoproxil fumarato, emtricitabina e rilpivirina	10/08/2011
EVG/C/F/TDF	Coppia di NRTI associata ad un INI	Tenofovir disoproxil fumarato, emtricitabina e elvitegravir/cobicistat	27/08/2012
DTG/3TC/ABC	Coppia di NRTI associata ad un INI	Abacavir, lamivudina e dolutegravir	22/08/2014
EVG/C/FTC/TAF	Coppia di NRTI associata ad un INI	Tenofovir alafenamide, emtricitabina e elvitegravir/cobicistat	05/11/2015
RPV/FTC/TAF	Coppia di NRTI associata ad un NNRTI	Tenofovir alafenamide, emtricitabina e rilpivirina	01/03/2016
FTC/TAF	Coppia di NRTI	Tenofovir alafenamide e emtricitabina	04/04/2016
BIC/FTC/TAF	Coppia di NRTI associata ad un INI	Tenofovir alafenamide, emtricitabina e bictegravir	07/02/2018
DRV/C/FTC/TAF	Coppia di NRTI associata ad un PI con booster	Tenofovir alafenamide, emtricitabina e darunavir/cobicistat	Pending*
DOR/3TC/TDF	Coppia di NRTI associata ad un NNRTI	Tenofovir disoproxil fumarato, lamivudina e doravirina	Pending

**In fase di valutazione da parte della FDA ma approvato dalla EMA in data 21/09/2017*

Gli inibitori della trascrittasi inversa sono stati i primi farmaci disponibili contro HIV e intorno ad essi (backbone) è stata costruita la storia della moderna terapia antiretrovirale: dall'inizio della ART, una coppia di NRTI ha sempre fatto parte dei regimi raccomandati come prima scelta, insieme al 3° farmaco

Gli NRTI nella terapia antiretrovirale

La storia degli NRTI consente di ripercorrere le tappe fondamentali del progresso della terapia antiretrovirale (ART), dalla iniziale monoterapia con zidovudina, alla terapia duplice in cui si dimostrava la superiorità dell'associazione di due NRTI, fino all'inizio della ART di combinazione che include più classi di farmaci.

Da allora una coppia di NRTI ha fatto continuativamente parte dei regimi raccomandati come prima scelta, in associazione ad un farmaco di altra classe (il cosiddetto terzo farmaco), dapprima un inibitore non-nucleosidico di trascrittasi (NNRTI) o un inibitore di proteasi (PI) e più recentemente un inibitore di integrasi, specificamente della reazione di *strand transfer* (INI).

La presenza degli NRTI nella terapia antiretrovirale sarà, infatti, cosi solida da tradursi nella denominazione di *backbone* nucleosidico, o semplicemente *backbone*, ad intendere che l'"ossatura" del trattamento antiretrovirale si debba appunto basare sull'uso di farmaci appartenenti a questa classe. Gli NRTI sono anche iniziatori e protagonisti a pieno titolo del paradigma della coformulazione, una modalità di somministrazione che ha certamente rafforzato l'efficacia della ART, incrementando l'aderenza al trattamento. Le coformulazioni hanno infatti dapprima riguardato due NRTI, zidovudina/lamivudina, poi addirittura tre (zidovudina/lamivudina/abacavir). Mentre la combinazione dei tre NRTI è rimasta un tentativo unico, superato dalla maggiore efficacia dei regimi che combinano farmaci di più classi, le coformulazioni di due NRTI si sono consolidate ulteriormente con lo sviluppo delle associazioni ancora oggi in uso, abacavir/lamivudina e tenofovir/emtricitabina, entrambe registrate nel 2004.

Il successo della coformulazione degli NRTI ha fornito la base per il successivo sviluppo di regimi compatti a tre farmaci dove ai due NRTI si associa un terzo farmaco di altra classe (NNRTI, PI, INI) andando a costruire le terapie di combinazione assunte attraverso la somministrazione giornaliera di una singola compressa (*single tablet regimen*, STR), il migliore standard raggiunto nella moderna ART. Il percorso di sviluppo degli NRTI ha parallelamente portato ad una progressiva riduzione di tossicità, con l'"uscita di scena" dei farmaci resi disponibili inizialmente e più gravati da questo aspetto (zidovudina, didanosina, zalcitabina, stavudina) e, più recentemente, con l'introduzione di una nuova formulazione di tenofovir (alafenamide o TAF, in luogo del precedente disoproxil fumarato o TDF) dimostratasi efficace soluzione della problematica di tossicità ossea e renale emersa con la versione precedente di questo composto.

I farmaci della classe NRTI hanno in generale una barriera genetica verso la resistenza relativamente bassa e una problematica di cross-resistenza estesa (**Tabella 2**).

Il successo della coformulazione degli NRTI ha aperto allo sviluppo di regimi compatti a tre farmaci in monosomministrazione giornaliera (STR)

Tabella 2 **Principali categorie e tipi di mutazioni di resistenza nei confronti degli NRTI**

	Mutazioni discriminatorie					Mutazioni analogo timidinico (TAM)						Mutazioni MDR	
Consensus	**184 M**	**65 K**	**70 K**	**74 L**	**115 Y**	**41 M**	**67 D**	**70 K**	**210 L**	**215 T**	**219 K**	**69 T**	**151 Q**
3TC	**VI**	**R**										**Ins**	**M**
FTC	**VI**	**R**										**Ins**	**M**
ABC	VI	**R**	**E**	**VI**	**F**	L			W	FY		**Ins**	**M**
DDI	VI	**R**	**E**	**VI**		L			W	FY		**Ins**	**M**
TDF	***	**R**	**E**		F	L		R	W	FY		**Ins**	**M**
D4T	***	**R**	**E**			**L**	**N**	**R**	**W**	**FY**	QE	**Ins**	**M**
ZDV	***	***	*	*		**L**	**N**	**R**	**W**	**FY**	QE	**Ins**	**M**

Le mutazioni in **grassetto rosso** sono associate ai livelli più alti di riduzione della sensibilità o della risposta virologica all'NRTI di interesse. Le mutazioni in **grassetto** riducono la sensibilità agli NRTI o la risposta virologica. Le mutazioni in chiaro contribuiscono alla riduzione della sensibilità in combinazione con altre mutazioni correlate alla resistenza agli NRTI.

HIV Drug Resistance Database-University of Stanford
(https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/resistance-notes/NRTI/)

Pattern di resistenza agli NRTI

Si distinguono tuttavia quadri diversi, in termini di tempistica di acquisizione di resistenza e grado di complessità del percorso mutazionale. In particolare, lamivudina ed emtricitabina presentano la barriera più bassa, con tempi rapidi di acquisizione di resistenza elevata come esito della selezione di una singola mutazione (M184I/V). L'eccellente tollerabilità ed efficacia antivirale di questi composti quasi gemelli ha cionondimeno comportato la loro inclusione nelle coformulazioni degli NRTI e nelle STR attualmente in uso. Gli analoghi timidinici, zidovudina e stavudina, ormai usciti di scena, selezionano una serie di mutazioni comuni (dette appunto TAM, *thymidine analog mutations*) con una cinetica di accumulo più lenta e livelli di resistenza progressivamente più elevati. Per il loro meccanismo d'azione, consistente nella rimozione dell'NRTI incorporato nella catena nascente del DNA virale, le TAM concorrono tuttavia a determinare una sorta di resistenza di classe, in particolare quando ad esse si aggiunge l'inserzione di uno o due aminoacidi in una zona fra i codoni 66 e 70 della trascrittasi, nel dominio deputato al riconoscimento del nucleotide da addizionare. Didanosina e zalcitabina (i cosiddetti ddN sulla base della sigla ddI e ddC, rispettivamente), anch'essi non più utilizzati, selezionano resistenza meno frequentemente, con un quadro mutazionale parzialmente sovrapposto e che interessa in particolare i codoni 65, 69 e 74. L'uso dei ddN, soprattutto nelle vecchie terapie con due NRTI non supportati da un terzo farmaco, è anche associato ad un raro quadro di resistenza di classe caratterizzato da un set di mutazioni che ha come capostipite la Q151M. Infine abacavir e tenofovir, gli altri due NRTI che assieme a lamivudina ed emtricitabina sono inclusi nelle coformulazioni e nelle STR attualmente in uso, presentano una barriera genetica più elevata, almeno nell'impiego clinico, ma anche in questo caso un livello di cross-resistenza non trascurabile, in presenza delle mutazioni K65R, K70E e Y115F. Alcune evidenze in vitro suggeriscono che la barriera genetica di tenofovir possa essere più elevata utilizzando il più recente profarmaco (TAF), rispetto a quello originario (TDF), come conseguenza della maggiore concentrazione intracellulare di principio attivo raggiungibile nel primo caso.[1] Tuttavia le evidenze in vivo indicano un tasso di selezione di resistenza analogo negli studi clinici comparativi delle due versioni di tenofovir.[2] Ulteriori approfondimenti in questo contesto sono attesi con interesse, in considerazione del fatto che la selezione della mutazione di resistenza K65R da parte di TDF appare significativamente favorita nel sottotipo virale C, maggiormente circolante nell'Africa sub-Sahariana e pertanto protagonista del maggior numero di infezioni da HIV a livello globale.[3]

Tra i farmaci della classe, si identificano situazioni diverse per quanto riguarda la tempistica di acquisizione e la complessità del percorso mutazionale

Andamento delle resistenze acquisite

Gli studi di prevalenza della resistenza in HIV condotti negli ultimi dieci anni indicano globalmente una riduzione della resistenza acquisita nei paesi ad alto reddito.[4] Le ragioni di questo andamento possono essere individuate nella crescente utilizzazione di regimi terapeutici efficaci e di facile

somministrazione, soprattutto STR. Tra i fattori che hanno contribuito all'aumento di efficacia sono compresi l'impiego contestuale di medicinali con proprietà farmacocinetiche affini e la frequente inclusione di un farmaco ad elevata barriera genetica nel regime terapeutico. Per questi motivi le moderne STR assicurano, infatti, sia la facilità di aderenza sia una certa tolleranza nei confronti di aderenza imperfetta, minimizzando i rischi di fallimento virologico e della selezione di resistenza. Nello specifico settore degli NRTI, sono praticamente scomparse le TAM e i quadri multiresistenti basati su Q151M e sulle inserzioni nella regione aminoacidica 66-70, tipicamente associati all'uso di NRTI di minore efficacia e tollerabilità e/o di regimi a più bassa barriera genetica. In pratica, le mutazioni riscontrabili nei fallimenti delle terapie attualmente raccomandate che includono due NRTI si limitano quasi esclusivamente alla M184V e, molto più raramente, alla K65R. Nello specifico, il riscontro di queste mutazioni riguarda soprattutto la casistica in cui gli NRTI sono associati a un NNRTI o a un INI di prima generazione poiché la combinazione con un PI con *booster* (soprattutto darunavir) o con INI di seconda generazione (dolutegravir e, in base ai dati ancora preliminari, bictegravir) riduce quasi a zero l'insorgenza di resistenza non solo nei confronti del terzo farmaco, dotato di elevata barriera genetica, ma anche degli stessi NRTI.[5]

Le moderne STR assicurano una certa tolleranza verso l'aderenza imperfetta, minimizzando i rischi di fallimento virologico e della selezione di resistenza

Le resistenze trasmesse

Come diretta conseguenza della minore incidenza di resistenza al fallimento della ART, nei paesi ad alto reddito si è registrato un trend di diminuzione di prevalenza anche per la resistenza trasmessa.[4] Tuttavia il tasso globale di questa evenienza permane da alcuni anni apparentemente inalterato rendendo sempre opportuno il test di resistenza prima dell'inizio della terapia.

I motivi di questa apparente discrepanza tra resistenza acquisita e trasmessa includono probabilmente un ritardo cronologico fra i due contesti (i ceppi trasmessi, anche inconsapevolmente, possono derivare da infezioni trattate molti anni prima con terapie subottimali ad elevato rischio di insorgenza di resistenza) e l'evenienza di *cluster* di trasmissione sostenuti da ceppi resistenti ben adattati all'ospite. La controprova dell'associazione tra resistenza acquisita e trasmessa viene dalle indagini condotte nei paesi a basso reddito nei quali l'"onda ancora lunga" dei trattamenti subottimali e la limitatezza delle seconde linee di terapia, con conseguente selezione di mutanti farmacoresistenti, si traduce in una crescita del tasso di resistenza trasmessa, soprattutto a carico degli NNRTI, classe con barriera genetica fragile, ampiamente utilizzata e caratterizzata da mutanti resistenti con elevata capacità replicativa e persistenza a lungo termine anche in assenza di pressione farmacologica.[6]

Ciò giustifica la recente indicazione da parte dell'Organizzazione Mondiale della Sanità verso un progressivo passaggio dalla terapia basata su NNRTI a quella basata su dolutegravir,[7] INI con elevata potenza, tollerabilità e barriera genetica.

Per l'ampia discrepanza tra resistenza acquisita e trasmessa, è sempre opportuno eseguire il test di resistenza prima di iniziare la terapia antiretrovirale

Gli NRTI nella PrEP

La continuità degli NRTI nella storia della ART è testimoniata anche dall'approvazione di questa unica classe, in particolare la combinazione tenofovir/emtricitabina, nella profilassi pre-esposizione (PrEP). Al di là dei dati di efficacia di questa strategia, certamente valida, è interessante notare come la PrEP configuri una condizione di uso particolarmente impegnativa per una coppia di NRTI (e addirittura per il singolo tenofovir negli studi iniziali) in termini di rischio di selezione di mutanti resistenti in caso di fallimento del protocollo.
Tuttavia l'analisi cumulativa degli studi clinici dimostra come in caso di infezione l'insorgenza di resistenza riguardi quasi esclusivamente le situazioni in cui la PrEP è iniziata fortuitamente in corso di infezione acuta, quando le quote replicative di virus sono particolarmente elevate e pertanto fortemente inclini alla generazione di mutanti.[8]
Questo dato suggerisce che la barriera genetica della coformulazione tenofovir/emtricitabina possa essere più elevata di quanto sia stato ritenuto in passato.

Gli studi mostrano lo sviluppo di resistenza solo nei casi in cui la PrEP è iniziata durante l'infezione acuta in presenza di replicazione virale molto elevata

Ruolo clinico della resistenza pregressa

Il ruolo clinico della resistenza pregressa agli NRTI è del resto oggetto di riconsiderazione alla luce di nuove acquisizioni ed analisi cumulative, sia nel contesto del paziente viremico sia in quello del paziente con carica virale stabilmente sotto controllo.
Nella prima condizione, ad esempio, la valutazione di alcune migliaia di pazienti in terapia di prima linea con vari regimi includenti tenofovir (TDF o più recentemente TAF) indica che mutazioni trasmesse come le TAM, ritenute in grado di diminuire l'efficacia di tenofovir in tutti gli algoritmi interpretativi, non hanno in effetti compromesso la risposta al trattamento.[9] Allo stesso modo, in uno studio comparativo tra raltegravir e dolutegravir in pazienti con pregressa esposizione alla ART ma non agli INI, la resistenza pregressa agli NRTI ha avuto impatto misurabile sulla terapia con il primo ma non su quella con il secondo e più potente INI, quando associati ad NRTI con attività ridotta.[10]
In vari studi di terapia di seconda linea o di linee più avanzate, condotti in buona parte in paesi a basso/medio reddito, la pregressa resistenza agli NRTI è stata inaspettatamente associata ad una migliore risposta alla terapia combinata con NRTI e un terzo farmaco della classe PI o INI, rispetto alla condizione di prevista suscettibilità agli NRTI[11] (**Tabella 3**).
Una possibile spiegazione di questo apparente paradosso è che la pregressa resistenza agli NRTI sia un marcatore di migliore aderenza rispetto al fallimento virologico senza resistenza e che i pazienti abbiano mantenuto gli stessi livelli di aderen-

La combinazione degli NRTI con PI o INI negli attuali regimi terapeutici ha diminuito il ruolo delle TAM trasmesse o precedentemente acquisite

Tabella 3 **Impiego di due NRTI associati ad un terzo farmaco in pazienti in fallimento di terapia**

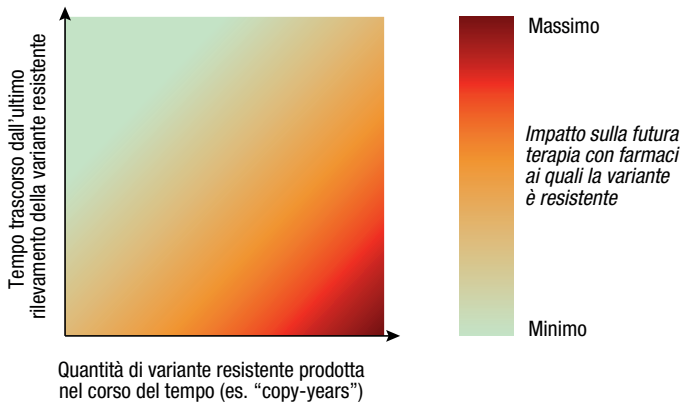
	Trattamento	NRTI attivi	Soppressione di HIV RNA
EARNEST (HIV RNA <400 copie per mL; settimana 144)	Due NRTI + ritonavir-boosted lopinavir	0 1 2	176/198 (89%) 95/112 (85%) 20/26 (77%)
SECOND-LINE (HIV RNA <500 copie per mL; settimana 96)	Due NRTI + ritonavir-boosted lopinavir	0-0,75 1 1,25-3	61/66 (92%) 69/80 (86%) 56/69 (81%)
ODIN (HIV RNA <50 copie per mL; settimana 48)	Due NRTI + ritonavir-boosted darunavir	0 1 2 or more	31/34 (91%) 101/128 (79%) 276/412 (67%)
DAWNING (HIV RNA <50 copie per mL; settimana 24)	Due NRTI + dolutegravir	<2 2	212/251 (84%) 45/61 (74%)
DAWNING (HIV RNA <50 copie per mL; settimana 24)	Due NRTI + ritonavir-boosted lopinavir	<2 2	180/248 (73%) 35/64 (55%)

In questi studi si è dimostrata un'associazione fra pregressa resistenza agli NRTI e maggiore probabilità di successo virologico

Hill e Venter, Lancet Infect Dis. 2018;18:3-5

za anche nella successiva terapia. Tuttavia, in alcuni studi la pregressa resistenza agli NRTI rimane significativamente associata ad un minor rischio di insuccesso virologico anche in modelli multivariati che correggono per aderenza, parametro peraltro spesso difficile da valutare con accuratezza. La connessione fra pregressa resistenza ed aderenza al successivo trattamento non può comunque spiegare il risultato dello studio MOBIDIP,[12] condotto in cinque ospedali dell'Africa sub-Sahariana, nel quale 265 pazienti in trattamento efficace (HIV RNA plasmatico <200 copie/ml) di seconda linea con PI (darunavir/ritonavir o lopinavir/ritonavir) e due NRTI sono stati randomizzati ad una semplificazione con lo stesso PI, in monoterapia o in terapia duplice assieme a lamivudina. L'esito della sperimentazione, con la sospensione del braccio in monoterapia alla settimana 48 per eccesso di fallimenti, ha suscitato dibattito in quanto la quasi totalità dei pazienti aveva una pregressa storia di resistenza alla lamivudina a causa della selezione della mutazione M184V. Evidenze preliminari analoghe sono state prodotte in un piccolo studio di semplificazione con dolutegravir e lamivudina in 27 pazienti in virosoppressione ma fortemente pretrattati, due terzi dei quali con precedente selezione della mutazione M184V, nel quale non si è registrato alcun fallimento a 48 settimane.[13] Questo dato, ottenuto in assenza di un braccio controllo, deve essere valutato alla luce dei fallimenti con insorgenza di resistenza registrati in monoterapia con dolutegravir,[14] strategia terapeutica ormai accantonata. Questi due studi supportano pertanto il concetto che la lamivudina, quando associata ad un farmaco ad elevata barriera genetica, mantenga attività antivirale anche in presenza della mutazione che in vitro conferisce resistenza completa allo stesso farmaco. Un recente studio retrospettivo italiano ha generato dati nella stessa direzione, suggerendo che la pregressa selezione di M184V non abbia impatto negativo sulla risposta alla terapia duplice di mantenimento con lamivudina combinata con un INI (quasi sempre dolutegravir) o con un PI con booster, seppur evidenziando un'associazione fra M184V e probabilità di blip viremici.[15] Il contesto semplificato della terapia a due soli farmaci ha permesso di individuare la lamivudina come protagonista di questo apparente paradosso, tuttavia non è chiaro se l'i-

Figura 1 **Relazione tra virus mutante prodotto, cinetica di decay e impatto sulla futura ART**



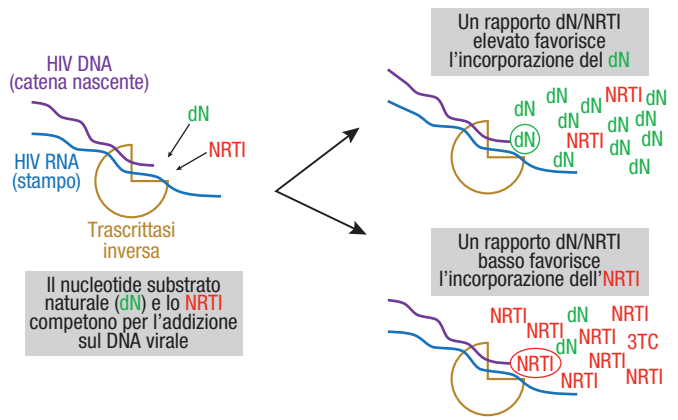
Relazione teorica fra quantità di mutante resistente prodotto, cinetica di decadimento del mutante al di sotto della soglia di rilevabilità e impatto su una futura terapia che includa farmaci a cui il mutante è resistente. La quantità di mutante resistente prodotto è a sua volta funzione del tempo di permanenza del mutante e della sua capacità replicativa.

Lamivudina, associata ad un farmaco ad elevata barriera genetica, sembra mantenere attività antivirale anche in presenza della mutazione che in vitro conferisce resistenza completa allo stesso farmaco

I livelli di resistenza agli NRTI misurati *in vitro* possono sovrastimare significativamente la perdita di efficacia *in vivo*

nattesa attività in presenza di resistenza genotipica possa essere specificamente appannaggio di questo NRTI o più generalmente una caratteristica della classe, stante la mancanza di studi analoghi con altri NRTI. A favore della prima ipotesi si può invocare la ben nota scarsa capacità replicativa dello specifico mutante M184V ma alcune considerazioni possono indirizzare anche verso un "effetto NRTI" più generale. In pazienti con lunga storia di terapia le resistenze agli NRTI spesso sono state selezionate per prime e, dopo un trattamento efficace prolungato con ART, possono rimanere confinate in quantità molto basse e/o in serbatoi poco propensi alla riattivazione, a maggior ragione in caso di capacità replicativa ridotta (**Figura 1**).
Inoltre i livelli di resistenza agli NRTI misurati in vitro sono tipicamente ricavati su linee cellulari nelle quali il contenuto dei nucleotidi trifosfati naturali è molto elevato, con conseguente maggiore difficoltà di azione del farmaco in esame, per cui il dato misurato può sovrastimare in modo significativo la perdita di efficacia in vivo (**Figura 2**).

Figura 2 **Implicazioni del rapporto tra nucleotide substrato naturale ed NRTI (entrambi trifosforilati) sull'attività antivirale dei NRTI**



La misurazione di tale attività nei test fenotipici è effettuata su cellule di linea nelle quali il livello di substrato naturale è più elevato rispetto al linfocito in vivo (in particolare nella condizione resting). Ciò potrebbe condurre ad una sovrastima della effettiva resistenza agli NRTI in vivo.

Infine, speculativamente, l'inibizione della trascrizione inversa da parte degli NRTI potrebbe essere un compito facilitato dalla durata prolungata di questa tappa del ciclo di replica[16] e dalla ridondanza dei tentativi che un NRTI ha a disposizione per interrompere la sintesi del DNA virale, condizione apparentemente favorevole che non si verifica con nessun'altra classe di antiretrovirali.

Gli NRTI nel presente e futuro della terapia antiretrovirale

Gli NRTI sono dunque la storia della ART, dai suoi fondamenti agli sviluppi attuali e futuri con un ampia gamma di utilizzazione. Tutte le STR di prima linea attuali includono due NRTI, il loro uso nelle terapie di salvataggio permane molto frequente anche a dispetto di una pregressa resistenza il cui impatto resta non del tutto compreso. Gli NRTI rimarranno nella storia anche come la prima opzione di PrEP, una strategia che vedrà molto probabilmente anche l'impiego di altre classi nell'ottica del continuo sviluppo della ART (es. INI e NNRTI in combinazione long acting con cabotegravir e rilpivirina). Il potenziale antivirale degli NRTI è aumentato nel corso del loro sviluppo, sia per la maggiore attività intrinseca delle molecole più recenti sia per la loro combinazione in regimi compatti e tollerabili. La fiducia nella classe si manifesta evidentemente anche nell'uso di un solo NRTI (quasi invariabilmente lamivudina) associato ad un farmaco ad elevata barriera genetica, PI o

dolutegravir, in terapia duplice. Questo concetto, che pare sovvertire le premesse storiche che avevano indicato la via obbligata dell'uso degli NRTI a coppie in terapia triplice, è di fatto entrato nella pratica clinica in vari paesi europei prima ancora di essere stato oggetto di attenta considerazione da parte delle linee guida.

Ai risultati convincenti della semplificazione con lamivudina e PI si affiancheranno i dati dell'associazione tra lamivudina e dolutegravir, attualmente in sperimentazione non solo in deintensificazione della terapia ma anche come trattamento di prima linea. Del resto lo scorso anno ha visto l'approvazione della prima STR a due farmaci con l'associazione di dolutegravir e rilpivirina (dunque priva di NRTI) che viola il solido paradigma della terapia triplice. D'altra parte gli NRTI tornano in formato coppia come protagonisti sia della prima triplice STR con un PI (darunavir potenziato con cobicistat, in associazione con TAF ed emtricitabina), ancora in fase di valutazione da parte di FDA ma già approvata da EMA, sia della prima triplice STR, anch'essa recentemente presentata alla FDA per approvazione, che associa due farmaci disponibili come generici (TDF e lamivudina) con l'ultimo NNRTI sviluppato (doravirina). Non resta dunque che attendere i futuri sviluppi della ART, una storia di successo mai finita e nella quale gli NRTI dimostrano longevità e adattamento senza pari.

Il potenziale antivirale degli NRTI è aumentato nel corso del loro sviluppo, sia per la maggiore attività intrinseca delle molecole più recenti, sia per la loro combinazione in regimi compatti e tollerabili

Overview e commento dei dati clinici

Andrea De Luca

Dopo l'avvento della terapia antiretrovirale a tre farmaci nel 1996, la prognosi delle persone che vivono con l'HIV è migliorata drasticamente. La terapia antiretrovirale di combinazione con tre farmaci – due analoghi nucleos(t)idici della trascrittasi inversa (NRTI) più un farmaco di ancoraggio di una diversa classe - ha prolungato l'aspettativa di vita degli adulti fino ad avvicinarla a quella della popolazione generale. I tassi di soppressione virologica a 48 settimane con i regimi correnti (una compressa una volta al giorno) possono superare il 90%; essi sono inoltre accompagnati da profili di sicurezza in costante miglioramento.

Il beneficio clinico della terapia deriva dal consentire tale soppressione della carica virale in maniera duratura nel tempo e da conseguenti recuperi della conta dei linfociti T CD4+. Essa ha consentito di ottenere successi terapeutici impensabili fino alla metà degli anni 90. Infatti la morbosità e la mortalità hanno subito una drastica riduzione, tuttora impensabile in altre patologie a prognosi infausta. Inoltre il trattamento efficace con i tre farmaci, dopo l'ottenimento della soppressione virale, ha permesso di abolire il rischio di trasmissione del virus con i rapporti sessuali, un obiettivo che ha consentito di ridurre significativamente la trasmissione virale a livello di popolazione ed una consapevolezza che ha recato un beneficio notevole alla qualità della vita delle persone che vivono con l'HIV.

I risultati degli studi NRTI-sparing

Il backbone nucleosidico composto da 2NRTI rappresenta storicamente il fondamento della terapia antiretrovirale efficace.

Benché negli ultimi anni siano stati effettuati diversi tentativi di testare clinicamente regimi senza o con meno NRTI, principalmente allo scopo di evitare le tossicità di tenofovir disoproxil fumarato (TDF) e di abacavir, questi sono stati talvolta infruttuosi e nel migliore dei casi hanno arrecato benefici limitati.

In particolare, nei *pazienti con infezione da HIV naive che intraprendono una prima linea terapeutica*, diversi regimi NRTI-sparing hanno mostrato una inferiore efficacia virologica rispetto allo standard 2NRTI + terzo farmaco.[1]

Di recente sono stati effettuati diversi tentativi di testare regimi senza o con meno NRTI sia nei pazienti naive sia nei virosoppressi, con benefici limitati

Alcuni studi hanno mostrato anche un incremento della tossicità (iperbilirubinemia da atazanavir) ed incremento delle resistenze al fallimento (con atazanavir + raltegravir, resistenze agli inibitori dell'integrasi).

Solo due ampi studi randomizzati hanno mostrato una formale non-inferiorità nell'efficacia virologica a 96 settimane di regimi "NRTI-sparing" (=senza

NRTI) o "NRTI-reducing" (=con 1 NRTI), a due farmaci, rispetto a regimi di tre farmaci con 2NRTI + "boosted" PI.
Lo studio NEAT 001 ha dimostrato la non-inferiorità di raltegravir + darunavir/r vs TDF/FTC + darunavir/r, tuttavia nei pazienti con CD4<200 cellule/mm^3 o con HIV RNA >100.000 copie/mL l'efficacia del regime a 2 farmaci è risultata inferiore. Inoltre, al fallimento virologico, raltegravir + darunavir/r mostrava una maggiore selezione di mutanti virali farmacoresistenti, che coinvolgeva la classe degli inibitori dell'integrasi. Vantaggi osservati nel regime duplice sono stati una migliore performance della funzione renale (eGFR) e della densità minerale ossea a fronte di un maggiore incremento del colesterolo LDL.
Lo studio GARDEL ha dimostrato la non-inferiorità virologica di 3TC+lopinavir/r rispetto a 2NRTI+lopinavir/r: tuttavia tale regime comprende un PI ormai in disuso a causa della tossicità e tra i 2NRTI del braccio in triplice era spesso usata la zidovudina, che non può essere più considerata uno standard di cura. Il braccio in duplice ha mostrato meno eventi avversi di grado 2 o superiore rispetto al braccio in triplice.

Un numero maggiore di *studi randomizzati di switch terapeutico in pazienti virosoppressi (con HIV RNA <50 copie/mL)* ha dimostrato la non-inferiorità di regimi con riduzione o abolizione degli NRTI.[1] In particolare 4 studi hanno dimostrato la non-inferiore (in un caso la superiore) efficacia virologica dello switch a 3TC con atazanavir/r (ATLAS-M, SALT), darunavir/r (DUAL-GESIDA) o lopinavir/r (OLE), rispetto alla prosecuzione di 2NRTI + i rispettivi PI. Non sono state evidenziate resistenze al fallimento delle duplici.

Studi randomizzati di switch terapeutico in pazienti virosoppressi con HIV RNA <50 copie/mL hanno dimostrato la non inferiorità dei regimi con riduzione o nessun NRTI vs la triplice terapia

Due studi (ATLAS-M e OLE) hanno mostrato un beneficio delle duplici in termini di recupero di funzione renale (eGFR), mentre gli altri due non hanno mostrato differenze significative. La densità minerale ossea è stata analizzata solo in due di tali studi: un beneficio della terapia NRTI-reducing si è evidenziato nello studio ATLAS-M ma non nel SALT.
In tutti e 4 gli studi non sono state osservate differenze tra NRTI-sparing e 2NRTI in termini di eventi avversi totali ed eventi avversi che hanno condotto alla sospensione terapeutica, mentre i regimi di NRTI-sparing erano associati ad un incremento dei lipidi ematici in 3 dei 4 studi.
La strategia NRTI-sparing analizzata negli studi più ampi risulta essere quella di switch a dolutegravir + rilpivirina. Gli studi SWORD 1 e 2 (n=1.024 pazienti) hanno mostrato la non-inferiore efficacia virologica dello switch a tale associazione rispetto alla prosecuzione dei regimi di provenienza con 2NRTI + un terzo farmaco (54% NNRTI, 27% IP, 19% INI). Il regime a 2 farmaci ha mostrato un beneficio in termini di densità minerale ossea e di marcatori di turnover osseo a fronte di un lieve ma significativo incremento degli eventi avversi (specie di tipo neuropsichiatrico), che hanno causato interruzione del regime (3% vs <1%). Lipidi ematici e funzione renale (misurata in termini di eGFR con la cistatina) non hanno mostrato variazioni significative. Dei tre fallimenti virologici nel regime duplice, uno è risultato genotipizzabile per le resistenze ed è stata osservata una mutazione K101E che conferisce un basso livello di resistenza alla rilpivirina; non sono stati osservati mutanti resistenti all'integrasi.

Diverse associazioni NRTI-sparing hanno dimostrato efficacia inferiore rispetto a triplici terapie con 2NRTI oppure sono state analizzate in studi prospettici non controllati con risultati deludenti. In particolare l'associazione di PI + maraviroc ha mostrato una costante inferiorità sia nei pazienti naive (studio MODERN: maraviroc + darunavir/r verso TDF/FTC + darunavir/r interrotto precoce-

Alcune associazioni NRTI-sparing mostrano una efficacia minore rispetto alle triplici con 2NRTI, anche in studi di seconda linea in paesi a risorse limitate emerge l'importanza del backbone con 2NRTI

mente per inferiorità della duplice), sia nello switch in pazienti virosoppressi (studio MARCH: maraviroc + PI/r verso 2NRTI + PI/r; Studio GUSTA: maraviroc + darunavir/r verso prosecuzione della precedente triplice, anche questo interrotto precocemente per eccesso di fallimenti virologici nel braccio duplice).
E' interessante osservare come lo studio MARCH abbia testato anche un braccio 2NRTI + maraviroc che, a differenza del braccio maraviroc + PI/r, ha dimostrato un'efficacia non-inferiore rispetto a 2NRTI + PI/r, a supporto dell'importanza del backbone di NRTI nel mantenere l'efficacia.[2]
Un'analisi approfondita dello studio GUSTA, inoltre, ha documentato come nei pazienti con un'aderenza autoriportata <80% i fallimenti virologici si verificavano esclusivamente nel braccio in terapia NRTI-sparing.[3]
Questo dimostra la minore "forgiveness" di questa associazione rispetto alla triplice con 2NRTI + terzo farmaco: nei periodi di aderenza subottimale, l'esposizione insufficiente a maraviroc e darunavir permetteva la ripresa della replicazione virale, fatto che non si verificava nel braccio in triplice terapia.

Altri approcci NRTI-sparing che si sono rivelati meno efficaci o sono stati interrotti per tossicità e resistenze al fallimento sono le combinazioni di atazanavir + raltegravir (unboosted nei naive nello studio SPARTAN, boosted nello switch in virosoppressi, nello studio HARNESS) e la combinazione di maraviroc + raltegravir in switch, associata ad elevati tassi di fallimento virologico (studio ANRS 157 ROCnRAL).
Invariabilmente tutte queste associazioni al fallimento hanno presentato una elevata percentuale di resistenze agli INI, tassi assai più elevati di quelli osservati negli studi con 2NRTI + raltegravir, a dimostrazione dell'effetto protettivo dei 2NRTI sul terzo farmaco, quando questo presenta una bassa barriera genetica.

Un altro contesto clinico nel quale è emersa chiaramente l'importanza del backbone con 2NRTI è quello degli *studi di seconda linea terapeutica condotti nei paesi a risorse limitate*. Oggi i regimi di prima linea nella stragrande maggioranza di questi paesi consistono in 2NRTI + NNRTI (soprattutto efavirenz).
Al fallimento virologico le raccomandazioni OMS indicano la necessità di passaggio ad una seconda linea con 2NRTI (cambiandone preferibilmente uno) ed un PI boosted (per lo più lopinavir o atazanavir). Dato che il monitoraggio virologico in questo setting è raro o talvolta ancora assente, si osserva un elevato tasso di resistenza agli NRTI al fallimento della prima linea, con conseguente resistenza crociata agli NRTI di seconda linea. Almeno tre studi randomizzati (4-6) assai ben disegnati hanno confrontato seconde linee terapeutiche con 2-3 NRTI + lopinavir rispetto a raltegravir + lopinavir. Il regime NRTI-sparing, nonostante una significativa resistenza agli NRTI, ha dimostrato efficacia simile e, nel follow-up prolungato alle 144 settimane dello studio EARNEST, addirittura inferiore.
Sorprendentemente, la maggiore resistenza agli NRTI, risultava associata ad una migliore efficacia del regime con 2-3 NRTI + lopinavir, fenomeno attribuito ad una consistente attività residua degli NRTI nonché alla prolungata cinetica intracellulare dei loro metaboliti attivi.
Ad ulteriore testimonianza della persistente efficacia dei 2NRTI, nonostante le resistenze, nel braccio di monoterapia con lopinavir dello studio EARNEST, che aveva mostrato efficacia inferiore ad 1 e 2 anni, la re-introduzione dei 2NRTI ha consentito di riguadagnare la percentuale perduta di soggetti virosoppressi.[4-6]

Terapie a meno NRTI e farmacoresistenza al fallimento

Sulla base di questi dati e di una recentissima revisione della letteratura[1] in generale si può affermare che i regimi con meno NRTI sono associati al fallimento con più mutazioni di resistenza.
La resistenza tende ad essere più comune nei pazienti ART-naive che falliscono una prima linea terapeutica NRTI-reducing, ma è anche osservabile nel contesto dei pazienti che intraprendono un regime NRTI-reducing da virosoppressi[7,8].
Questo è particolarmente valido per le associazioni con PI/r + raltegravir, al fallimento delle quali compaiono spesso mutanti resistenti in integrasi. Contrariamente a ciò, i regimi con PI/r + 3TC non si associano a resistenze al fallimento.
Tuttavia, una osservazione recente della pratica clinica indica come non solo i fallimenti a due farmaci NRTI-sparing o reducing si associno a maggiori tassi di resistenza rispetto ai corrispondenti regimi a tre farmaci ma che persino con PI/r + 3TC possano emergere mutanti resistenti[9]. Si tratta di verificare tuttavia in tale setting quali fossero le resistenze pregresse e se il contesto di impiego delle duplici fosse analogo a quello delle corrispondenti triplici. Un dato che sembra quindi emergere da diverse osservazioni è che il backbone di 2NRTI protegge il terzo farmaco ed i regimi con dolutegravir selezionano meno resistenze.
In un contesto come quello attuale, nel quale gli inibitori dell'integrasi sono ormai un caposaldo di diverse linee terapeutiche e si apprestano a diventarlo anche a livello globale, preservare dalla selezione di mutanti virali resistenti agli inibitori dell'integrasi appare di notevole rilievo clinico e di sanità pubblica.

Nella pratica clinica i regimi a 2 farmaci si associano a maggiore selezione di farmacoresistenze rispetto ai regimi con 2NRTI + PI boosted o INI

Il backbone NRTI e la forgiveness dei regimi antiretrovirali

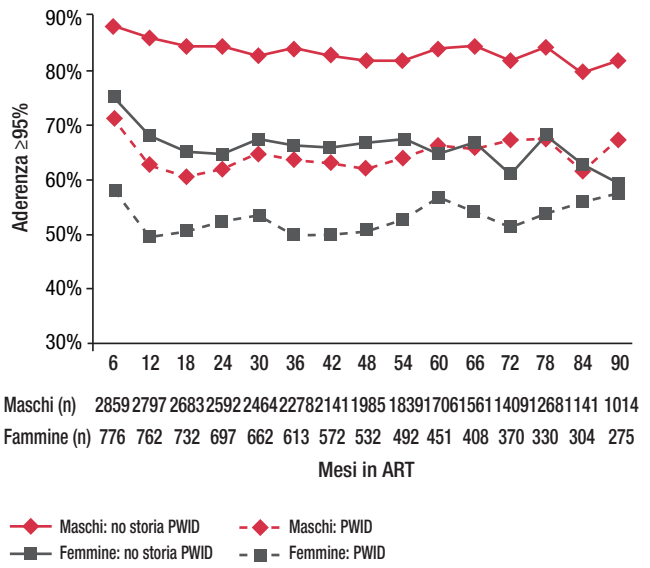
Recenti dati della coorte della British Columbia (**Figura 1**) documentano come una proporzione consistente di pazienti presenti un'aderenza, calcolata con il refill dei farmaci, meno che ottimale. In tale coorte di oltre 3000 persone che iniziavano la ART, la proporzione di individui con aderenza subottimale era maggiore tra le donne e le persone con storia di tossicodipendenza per via iniettiva e tendeva ad incrementare nel tempo.[10] Sono osservazioni della vita reale spesso non registrabili nei trial clinici, dove i pazienti sono selezionati e soprattutto il monitoraggio è ravvicinato e standardizzato. E' evidente come in un contesto di pratica clinica che è sempre più difficilmente monitorato in maniera ravvicinata, sia determinante la forgiveness del regime antiretrovirale intrapreso. Nelle sottoanalisi dello studio GUSTA è emerso come

Dalla real life emerge che una proporzione importante di pazienti presenta una aderenza non ottimale

Il backbone con 2NRTI protegge il terzo farmaco, permettendo una maggiore forgiveness di questi regimi

la causa dell'eccesso di fallimento virologico con maraviroc+darunavir/r sia da attribuire alla scarsa forgiveness di tale regime rispetto ai regimi di triplice con 2NRTI: infatti a parità di scarsa aderenza, il regime NRTI-sparing andava incontro a fallimento virologico, mentre il regime di triplice con 2NRTI non falliva anche nei pazienti con aderenza <80%, verosimilmente grazie alla maggiore persistenza intracellulare dei 2NRTI anche dopo temporanee interruzioni terapeutiche. La maggiore forgiveness dei regimi con backbone di 2NRTI spiegherebbe anche la minore selezione di mutanti resistenti descritta nel precedente paragrafo.

Figura 1 **Pazienti con aderenza ottimale (≥95%) alla ART, dal suo inizio (2000-2014) fino a 90 mesi di terapia, divisi per uso di sostanze per via iniettiva (PWID)**



Puskas CM et al. AIDS 2017; 31:827-833

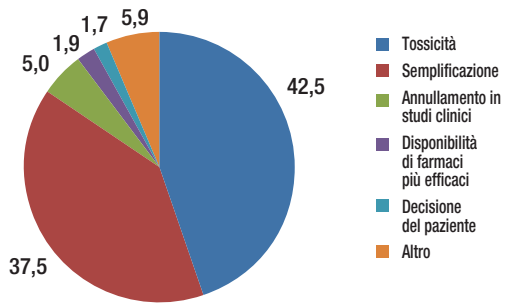
La durability delle terapie duplici

A fronte di dati osservazionali di decenni dei regimi di triplice terapia con 2NRTI nella pratica clinica, le osservazioni di lunga durata dei regimi NRTI-sparing o reducing sono ancora limitati. *Di Biagio et al* hanno analizzato la durability e le cause di interruzione di una seconda linea terapeutica in 835 pazienti della coorte ICONA[11]. La causa principale del passaggio alla seconda linea era legata a motivi di tossicità o semplificazione (**Figura 2**). I regimi a singola compressa mostravano un significativo effetto protettivo sul rischio di sospensione, confermando l'effetto benefico di regimi compatti, mentre l'interruzione della seconda linea era più probabile dopo un passaggio da un regime con PI a regimi NRTI-sparing.

Nella coorte retrospettiva spagnola VACH[1,2] sono state confrontate la persistenza, l'efficacia e la tossicità di combinazioni a 2 farmaci con dolutegravir e/o PI (regime a 2 farmaci DT; n=1872) con quella di regimi triplici con INI (regime a 3 farmaci TT; n=7371) (**Figura 3**).

Confermato l'effetto protettivo degli STR sulla probabilità di sospensione, a maggior rischio i regimi NRTI-sparing

Figura 2 **Motivi di passaggio alla seconda linea terapeutica nella coorte ICONA**

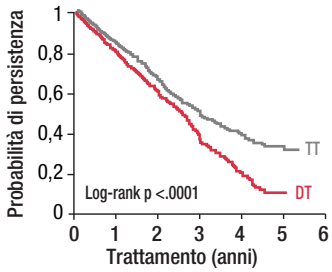


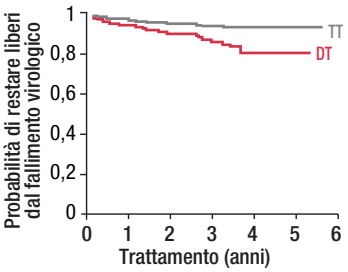
Di Biagio A et al. AIDS Patient Care STDS. 2017;31(12):487-494

Figura 3 **Studio di coorte VACH: i risultati**

Regime a 3 farmaci (TT) (n=7371)	n (%)
DTG + ABC o TDF	3090 (41%)
EVG/c + TAF o TDF	2966 (40%)
RAL + ABC o TDF	1315 (18%)

Regime a 2 farmaci (DT) (n=1872)		n (%)
DRV o LPV	3TC	643 (34%)
DRV o LPV	RPV	207 (11%)
DTG o RAL	DRV o LPV	583 (31%)
DTG	3TC	146 (8%)
DTG	RPV	293 (16%)





Teira R et al. EACS 2017. PE9/33

Sono necessarie valutazioni più attente sulla persistenza nel lungo termine dei regimi NRTI-sparing in real life

Il rischio di interruzione era del 29% più elevato con 2DC vs TT (p<0.0001), mentre il rischio di fallimento virologico era di 2 volte maggiore con DT rispetto a TT (HR aggiustato=2.06; p<0.0001), anche nel sottogruppo trattato con DTG (HR aggiustato=2.78; p<0.0001).
Queste osservazioni sottolineano la necessità di attenzione e di studio della durability nel lungo termine dei regimi NRTI-sparing nella pratica clinica reale.

Immunoattivazione, ageing e terapie triplici vs NRTI-sparing o reducing

Sono numerosi gli studi che documentano come nella malattia da HIV l'immunoattivazione e l'infiammazione siano alla base di un precoce invecchiamento e di un eccesso di eventi clinici rilevanti non-AIDS definenti (cardiovascolari, cerebrovascolari, neoplastici). Le terapie triplici sono in grado di ridurre l'immunoattivazione e l'infiammazione anche se non sempre al livello della popolazione generale. I dati con i regimi NRTI-sparing sono tuttora scarsi. Nello studio ATLAS-M il braccio atazanavir/r + 3TC ha mostrato un andamento analogo di marcatori sierologici di immunoattivazione/infiammazione (PCR, IL-6, sCD14, d-dimero) rispetto al braccio in atazanavir/r + 2NRTI.[13] Nello studio SWORD, diversi marcatori sierici di immunoattivazione e coagulazione sono stati confrontati nel braccio in dolutegravir + rilpivirina mostrando un andamento analogo rispetto alla triplice terapia.[14] Il rapporto CD4:CD8 è un marcatore di immunoattivazione ed è associato alla immunosenescenza e al rischio di morbosità e mortalità non-AIDS relate.[15] Nella coorte ICONA sono stati analizzati i CD4 ed i CD8 in pazienti con HIV-RNA ≤50 c/mL in terapia triplice che effettuavano uno switch ad un'altra triplice, a dual o ad una monoterapia.[16] Sono stati osservati un incremento della conta dei CD8 ed una riduzione del rapporto CD4:CD8 in pazienti che passava-

Osservato l'aumento dei CD8 e la riduzione del rapporto CD4:CD8 dopo switch da triplice a duplice terapia

Tabella 1 **Modificazioni dei CD4 e dei CD8 e del rapporto CD4:CD8 in virosoppressi in switch da triplice terapia (TT) ad altra TT o a duplice (DT) o a monoterapia (MT) nella coorte ICONA**

Modificazione/variazione media dallo switch a 24 mesi*	TT (n=463)	DT or MT (n=81)	P-value
CD4:CD8 rapporto (log_{10})	Ref	-0.07	0.006
CD8	Ref	+138.2	<0.001
CD4	Ref	+20.2	0.44

Mussini C et al. IAS 2017. Oral #MOPEB0323

no a DT o monoterapia rispetto ai pazienti che passavano ad un'altra triplice (**Tabella 1**). Questo dato, benchè non distinto per tipologie di regimi e soprattutto dovuto a dual therapy con PI/r + raltegravir, sottolinea la necessità di una maggiore attenzione a questo aspetto nel considerare una riduzione degli NRTI. Infine, in 201 pazienti dello studio NEAT001 sono state misurate le lunghezze dei telomeri, una misura caratteristica di invecchiamento. E' stato osservato un aumento significativo della lunghezza dei telomeri nei pazienti in terapia con 2NRTI + darunavir/r ($p<0.0001$) ma non nei pazienti trattati con raltegravir + darunavir/r ($p=0.2666$).

HIV DNA e viremia residua

E' noto come la quantità di HIV DNA totale nel sangue periferico sia una misura approssimativa ma sufficientemente affidabile del reservoir virale complessivo presente nelle cellule infette dell'organismo. La quantità di HIV DNA è un marcatore prognostico indipendente da HIV RNA e predice il rischio di rebound virologico. Esso costituisce una delle misure rilevanti per future strategie di eradicazione del virus.

In corso di trattamento con terapie standard, si assiste ad una riduzione della quantità di HIV DNA nelle cellule mononucleate di sangue periferico lenta ma graduale, fino ad un plateau che si stabilisce dopo circa 4 anni. I dati in merito all'effetto delle terapie NRTI-reducing o sparing sono molto scarsi. Negli studi di monoterapia con darunavir/r, sia l'HIV DNA che la viremia residua (la quantità di HIV-1 RNA misurabile sotto le 50 copie/mL) erano invece perdittori di successivo fallimento virologico. Per le terapie duplici nello studio ATLAS-M[17] l'andamento di HIV DNA da sangue intero era simile nel braccio con ATV/r+3TC rispetto al braccio ATV/r+2NRTI e la quantità di HIV DNA al basale e durante il follow up non correlava con il rischio di blip o fallimento virologico. Anche la viremia residua non subiva variazioni nel braccio duplice rispetto al braccio triplice e non prediceva il fallimento virologico in questo studio.

Ancora scarsi i risultati ottenuti dalla dual therapy sulla quantità di HIV DNA

Alcune osservazioni suggeriscono come il passaggio da PI a INI possa essere associato ad una ulteriore riduzione di HIV DNA, senza intaccare la viremia residua.[17] Sarà pertanto rilevante osservare se le terapie NRTI-reducing con INI vs triplici con INI siano associate a modificazioni del reservoir virale, dato al momento non ancora disponibile.

Santuari: rilevanza della penetrazione farmacologica

Un recente studio ha dimostrato come in pazienti con viremia plasmatica stabilmente soppressa processi dinamici e spaziali collaborino nel consentire la persistenza di HIV-1 nel tessuto linfatico evitando al contempo lo sviluppo di farmacoresistenza. La produzione continua di virus da parte

Va chiarito se le terapie NRTI-sparing possono aumentare il rischio di replicazione residua e quindi rifornire il reservoir virale

delle cellule infette del tessuto linfatico, dove le concentrazioni farmacologiche non sono pienamente soppressive, continua a riempire il reservoir ed il traffico virale nel sangue e nel tessuto linfatico medesimo.
Le ridotte concentrazioni farmacologiche ottenute nel tessuto usando una terapia a tre farmaci non sono sufficienti per conferire un vantaggio competitivo ai ceppi farmaco-resistenti e, quindi, la farmacoresistenza non si seleziona. Gli autori concludono che il raggiungimento di una farmacocinetica cellulare ed una distribuzione spaziale nel tessuto linfatico ottimali rappresenta un prerequisito alla eliminazione del reservoir virale per una cura ottimale dell'infezione da HIV-1.[19]

In precedenza gli stessi autori avevano dimostrato come diversi farmaci appartenenti alla classe degli NRTI, NNRTI e PI penetravano meno nelle cellule del tessuto linfatico rispetto alle cellule mononucleate di sangue periferico.
In alcuni pazienti, in corso di terapia, nonostante la soppressione virologica plasmatica e nelle PBMC, il decadimento del virus nelle cellule follicolari dendritiche era rallentato o addirittura aumentato, a dimostrazione di una replicazione virale persistente. Tale persistenza correlava con le ridotte concentrazioni locali dei farmaci.[20]
Alla luce di queste fini osservazioni resta da comprendere se, in quali circostanze e con quali combinazioni, terapie con ridotto numero di farmaci, ed in particolare di NRTI, possano incrementare il rischio di replicazione residua ed incrementare il reservoir virale.
In particolare mancano ancora studi di questo tipo che coinvolgano inibitori dell'integrasi (INI) virale in strategie di riduzione dei NRTI.

Il compartimento neurologico

Alcune strategie di NRTI-sparing sono state associate ad un escape virologico nel liquido cefalo-rachidiano (LCR) con sintomi neurologici. Tale escape sintomatico è stato osservato principalmente in pazienti che effettuavano monoterapia con PI/r e si risolveva dopo la reintroduzione di 2NRTI. D'altra parte, l'escape virologico asintomatico nel LCR non risulta essere più frequente nei pazienti in monoterapia con PI/r rispetto ai pazienti in ART standard.[21]
Esistono al momento meno dati sul Sistema Nervoso Centrale (SNC) con regimi di switch a duplice terapia. Nello studio ATLAS-M dopo switch ad ATV/r e 3TC non si osservano differenze negli esiti neurocognitivi a 48 ed a 96 settimane rispetto alla prosecuzione di una tripice terapia con 2NRTI+ATV/r. In considerazione della replicazione

In pazienti a rischio di escape virologico nel SNC, è prudente mantenere una triplice terapia con buon passaggio della barriera emato-encefalica

virale autonoma nel SNC in pazienti con quadri di encefalopatia da HIV, appare prudente assicurare in questi una associazione a tre farmaci con buon passaggio di barriera emato-encefalica. Non esistono dati al momento riguardo la possibilità di ridurre il numero di farmaci una volta che il quadro clinico sia andato stabilmente in remissione e dopo l'ottenimento della soppressione virologica liquorale. Tuttavia sembrerebbe opportuno un comportamento prudente in questa categoria di pazienti.

Apparato genitale e trasmissione di HIV

E' noto come la soppressione stabile della replicazione virale plasmatica (<200 copie/mL) sia associata ad una abrogazione della trasmissione virale in coppie sierodiscordanti eterosessuali ed omosessuali. Questa evidenza sta alla base dell'impiego del trattamento anche come strategia di prevenzione della trasmissione virale sia a livello individuale sia di popolazione. Ciò ha aperto opportunità prima negate per rapporti sessuali e gravidanze con un rischio di trasmissione di HIV residuale. E' noto che la riduzione dello *shedding* virale nell'apparato genitale femminile e nel liquido seminale segue la riduzione della carica virale plasmatica, anche se una certa quota di *shedding* genitale persiste in alcuni soggetti virosoppressi a livello plasmatico. Questi risultati sono stati ottenuti con le terapie standard a 3 farmaci comprendenti 2NRTI. Occorre essere consapevoli del fatto che non tutti i farmaci penetrano allo stesso modo nel compartimento genitale, e che tale penetrazione sia condizionata da una serie di variabili poco controllabili come il micobioma vaginale, la presenza di ulcerazioni, infezioni ed infiammazioni locali. Pertanto si ritiene che le associazioni a più farmaci con 2NRTI possano vicariare concentrazioni di alcuni farmaci transitoriamente o persistentemente insufficienti a livello locale. L'influenza di strategie di riduzione dei farmaci sulle concentrazioni locali dei medesimi e soprattutto sullo shedding genitale richiede ancora di essere indagata.

E' prudente ritenere che le associazioni a più farmaci con 2NRTI possano supplire alle concentrazioni insufficienti di alcuni farmaci a livello tissutale

Conclusioni

La triplice basata su 2NRTI ed un terzo farmaco è lo standard della HAART. Le evidenze di efficacia con questi trattamenti non hanno riguardato semplicemente la soppressione virologica plasmatica. Sono state osservate riduzioni del reservoir virale nei PBMC, nel tessuto linfatico, nell'LCR, nell'apparato genitale, è stato osservato un beneficio in termini di ripristino dei CD4 ma anche riduzione dei CD8 con conseguente miglioramento del rapporto CD4/CD8, riduzione dei parametri di immunoattivazione e infiammazione. Tutto questo si è tradotto, in presenza di soppressione virologica plasmatica, in benefici in termini di sopravvivenza, ridotta morbosità AIDS-relata e non AIDS-relata, abolizione della contagiosità e riduzione della selezione e della trasmissione delle farmacoresistenze a livello di popolazione. Benché diversi studi controllati abbiano dimostrato la non-inferiore efficacia virologica di alcuni regimi NRTI-sparing e reducing, i livelli di evidenza, specialmente di alcuni di essi, sono ancora insufficienti per poter rischiare la perdita degli obbiettivi di successo raggiunti con la triplice terapia con 2NRTI. Inoltre non esistono ancora studi di confronto tra strategie NRTI-sparing o reducing e regimi a tre farmaci comprendenti TAF. Sono, quindi, necessari studi di più lungo termine, specialmente con gli INI, affiancati da analisi della pratica clinica che comprendano pazienti meno selezionati e monitorati rispetto a quelli degli studi controllati, nonché approfondimenti sul comportamento dei reservoir cellulari ed anatomici, che consentano di accumulare dati di sicurezza che possano avvicinare quelli dello standard di tre farmaci comprendenti 2NRTI.

Bibliografia

Il backbone nucleosidico: la solidità della storia come promessa per il futuro

1. Margot NA, et al. High resistance barrier to tenofovir alafenamide is driven by higher loading of tenofovir diphosphate into target cells compared to tenofovir disoproxil fumarate. Antiviral Res. 2016;132:50-8.
2. Wang H, et al. The efficacy and safety of tenofovir alafenamide versus tenofovir disoproxil fumarate in antiretroviral regimens for HIV-1 therapy: Meta-analysis. Medicine (Baltimore). 2016; 95(41):e5146.
3. TenoRes Study Group. Global epidemiology of drug resistance after failure of WHO recommended first-line regimens for adult HIV-1 infection: a multicentre retrospective cohort study. Lancet Infect Dis. 2016;16(5):565-575.
4. Siliciano JD, Siliciano RF. Recent trends in HIV-1 drug resistance. Curr Opin Virol. 2013; 3(5):487-94.
5. Llibre JM, et al. Genetic barrier to resistance for dolutegravir. AIDS Rev. 2015;17(1):56-64.
6. Gupta RK, et al. HIV-1 drug resistance before initiation or re-initiation of first-line antiretroviral therapy in low-income and middle-income countries: a systematic review and meta-regression analysis. Lancet Infect Dis. 2018;18(3):346-355.
7. http://www.who.int/hiv/mediacentre/news/transition-to-new-arv-QA/en/index8.html
8. Riddell J 4th, et al. HIV Preexposure Prophylaxis: A Review. JAMA. 2018;319(12):1261-1268.
9. Margot NA, et al. Commonly Transmitted HIV-1 Drug Resistance Mutations in Reverse-Transcriptase and Protease in Antiretroviral Treatment-Naive Patients and Response to Regimens Containing Tenofovir Disoproxil Fumarate or Tenofovir Alafenamide. J Infect Dis. 2017;215(6):920-927.
10. Demarest J, et al. Short Communication: Dolutegravir-Based Regimens Are Active in Integrase Strand Transfer Inhibitor-Naive Patients with Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor Resistance. AIDS Res Hum Retroviruses. 2018;34(4):343-346.
11. Hill AM, et al. The unexpected success of NRTIs in second-line treatment. Lancet Infect Dis. 2018;18(1):3-5.
12. Ciaffi L, et al; MOBIDIP study group. Boosted protease inhibitor monotherapy versus boosted protease inhibitor plus lamivudine dual therapy as second-line maintenance treatment for HIV-1-infected patients in sub-Saharan Africa (ANRS12 286/MOBIDIP): a multicentre, randomised, parallel, open-label, superiority trial. Lancet HIV. 2017;4(9):e384-e392.
13. Charpentier C, et al. HIV-1 DNA ultra-deep sequencing analysis at initiation of the dual therapy dolutegravir + lamivudine in the maintenance DOLULAM pilot study. J Antimicrob Chemother. 2017;72(10):2831-2836.
14. Blanco JL, et al. Dolutegravir resistance mutations: lessons from monotherapy studies. Curr Opin Infect Dis. 2018;31(3):237-245.
15. Gagliardini R, et al. Impact of previous M184V on virological outcome of switch to 3TC-based dual therapies. CROI 2018, #498.
16. Murray JM, et al. Timing of the components of the HIV life cycle in productively infected CD4+ T cells in a population of HIV-infected individuals. J Virol. 2011;85(20):10798-805.

Overview e commento dei dati clinici

1. Rossetti B, et al. Current and emerging two-drug approaches for HIV-1 therapy in ART-naïve and ART-experienced, virologically suppressed patients. Expert Opin Pharmacother. 2018;19(7):713-738.
2. Pett SL, et al. Maraviroc, as a Switch Option, in HIV-1-infected Individuals With Stable, Well-controlled HIV Replication and R5-tropic Virus on Their First Nucleoside/Nucleotide Reverse Transcriptase Inhibitor Plus Ritonavir-boosted Protease Inhibitor Regimen: Week 48 Results of the Randomized, Multicenter MARCH Study. Clin Infect Dis. 2016;63(1):122-32.
3. Rossetti B, et al for the GUSTA trial study group. Switch to maraviroc with darunavir/r, both QD, in patients with suppressed HIV-1 was well tolerated but virologically inferior to standard antiretroviral therapy: 48-week results of a randomized trial. PLoS One. 2017;12(11):e0187393.
4. Hakim JG, et al. Lopinavir plus nucleoside reverse-transcriptase inhibitors, lopinavir plus raltegravir, or lopinavir monotherapy for second-line treatment of HIV (EARNEST): 144-week follow-up results from a randomised controlled trial. Lancet Infect Dis 2018;18:47-57.
5. Boyd M, et al. Baseline HIV-1 resistance, virological outcomes, and emergent resistance in the SECOND-LINE trial: an exploratory analysis. Lancet HIV 2015;2:e42-e51.
6. La Rosa AM, et al. Raltegravir in second-line antiretroviral therapy in resource-limited settings (SELECT): a randomised, phase 3, non-inferiority study. Lancet HIV 2016;3:e247-e258.

7. Soriano V, et al. Dual antiretroviral therapy for HIV infection. Expert Opinion on Drug Safety 2017;16(8):923-932.
8. Orkin C, et al. Nucleoside reverse transcriptase inhibitor-reducing strategies in HIV treatment: assessing the evidence. HIV Med. 2018;19(1):18-32.
9. Calvez V, et al. Antiretroviral Resistance Selected at Failure in HIV-Infected Patients Treated by Triple Therapy and 2-Drug Combinations EACS 2017. Milan, Italy. Oral #PS1/4.
10. Puskas CM, et al. The adherence gap: a longitudinal examination of men's and women's antiretroviral therapy adherence in British Columbia, 2000-2014. AIDS 2017,31: 827-833.
11. Di Biagio A, et al. Durability of Second Antiretroviral Regimens in the Italian Cohort Naive Antiretrovirals Foundation Study and Factors Associated with Discontinuation- AIDS Patient Care STDS. 2017 Dec;31(12):487-494.
12. Teira R, et al. Real World Persistency with Standard of Care Triple Therapy (TT) is Significantly Betterthan Dual Therapies (DT) for Treatment of HIV in a Large Spanish Cohort - VACH. EACS 2017. Milan, Italy. PE9/33.
13. Belmonti S, et al. Systemic inflammation markers after simplification to atazanavir/ritonavir plus lamivudine in virologically suppressed HIV-1-infected patients: ATLAS-M substudy. J Antimicrob Chemother. 2018 Apr 17.
14. Libre J, et al. Efficacy, safety, and tolerability of dolutegravir-rilpivirine for the maintenance of virological suppression in adults with HIV-1: phase 3, randomised, non-inferiority SWORD-1 and SWORD-2 studies. Lancet. 2018;391(10123): 839-849.
15. Lu W, et al. CD4:CD8 ratio as a frontier marker for clinical outcome, immune dysfunction and viral reservoir size in virologically suppressed HIV-positive patients. J Int AIDS Soc 2015;18(1):20052.
16. Mussini C, et al. CD4/CD8 ratio in patients who switch cART therapy: triple drug regimen could be better than mono/dual? IAS 2017. Paris, France. Oral #MOPEB0323.
17. Fabbiani M, et al. ATLAS-M Study Group. Atazanavir/ritonavir with lamivudine as maintenance therapy in virologically suppressed HIV-infected patients: 96 week outcomes of a randomized trial. J Antimicrob Chemother. 2018 Apr 12.
18. Rossetti B, et al. Total cellular HIV-1 DNA decreases after switching to raltegravir-based regimens in patients with suppressed HIV-1 RNA. J Clin Virol. 2017;91:18-24.
19. Lorenzo-Redondo R. Persistent HIV-1 replication maintains the tissue reservoir during therapy. Nature. 2016; 530(7588):51-56.
20. Fletcher CV, et al. Persistent HIV-1 replication is associated with lower antiretroviral drug concentrations in lymphatic tissues. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2014;111:2307-2312.
21. Ferretti F, et al. Central nervous system HIV infection in "less-drug regimen" antiretroviral therapy simplification strategies. Semin Neurol. 2014;34(1):78-88.

effetti

con il supporto incondizionato di

GILEAD