

Ottobre 2008 Anno 9

Trimestrale di aggiornamento medico

Publicazione registrata al Tribunale di Milano n.71 del 10 febbraio 2006

Poste Italiane s.p.a. - Spedizione in Abbonamento Postale - D.L. 353/2003 (conv. In L. 27/02/2004 n.46) art. 1, comma 1, DCB Milano.

Editore: **effetti**® srl

ISBN: 978-88-87052-25-1

Direttore Scientifico: M. Moroni

Direttore Responsabile: F. Tacconi

Coordinamento editoriale: C. Balotta, L. Meroni

Stampa: Magicgraph srl
Via Galvani, 2 - 21052 Busto Arsizio (VA)

ReAdfiles

Numero 3

Resistenza e Adesione alle terapie nella cura dell'AIDS

editoriale

Prospettive innovative di terapia antiretrovirale: the second wave of HAART

Adriano Lazzarin

Anche se non può essere considerata conclusa e definitivamente vinta, la guerra tra i farmaci antiretrovirali ed HIV sembra aver segnato molti punti a favore dei primi in questi ultimi tempi.

La disponibilità di nuovi farmaci in grado di controllare anche la replicazione di ceppi virali multiresistenti ha notevolmente cambiato il modo di trattare oggi e le prospettive di cura per il futuro di questa infezione.

Ne sono una evidente testimonianza le percentuali di successo (> 2/3 dei pazienti con viremia inferiore alle 50 copie) che sono state raggiunte negli studi registrati sui pazienti plurifalliti degli ultimi farmaci antiretrovirali (raltegravir, etravirina e maraviroc) che sono appena entrati o entreranno nel nostro armamentario terapeutico a breve.

Da queste esperienze sono derivate chiare indicazioni sulle modalità di trattamento dei pazienti *multiexperienced* con fallimento virologico dovuto a resistenze ai PI, agli NRTI ed agli NNRTI. Le linee-guida attuali prevedono che la *deep-rescue* si avvalga di tre farmaci attivi, di cui due possibilmente appartenenti a nuove classi.

In termini di efficacia non è utopistico pensare che nei prossimi anni si possa passare dall'attuale 80% di pa-

percorsi
ragionati

3

- 3 **Dati sperimentali e considerazioni speculative sulla profilassi post e pre-esposizione**
G. DE CARLI, V. PURO, G. IPPOLITO
- 6 **L'infezione acuta da HIV**
G. TAMBUSI
- 9 **Verso nuove strategie per il trattamento del paziente naive, naive avanzato, AIDS presenter**
G. DI PERRI
- 11 **Il primo fallimento**
F. MAGGIOLO
- 13 **Terapia di salvataggio: pazienti pluritrattati o nuovi naive?**
A. ANTINORI
- 16 **Gli inibitori del CCR5**
C.F. PERNO
- 19 **Saggi di sensibilità agli inibitori del CCR5**
C. BALOTTA
- 24 **Gli inibitori della fusione**
S. LO CAPUTO
- 28 **Gli inibitori dell'integrasi**
L. PALMISANO
- 31 **Nuovi inibitori della proteasi e loro profili di resistenza**
A. DE LUCA, A. MARZOCCHETTI
- 34 **I nuovi inibitori non-nucleosidici della trascrittasi inversa (NNRTI)**
S. RUSCONI
- 39 **Gli inibitori della maturazione**
A. CASTAGNA
- 41 **Le interazioni dei nuovi farmaci antiretrovirali**
S. BONORA

meeting
report

43

hot
news

59

zienti con HIV RNA inferiore a 50 copie a percentuali di successo vicine al 100%.

Non mancano le ombre in questa ottimistica prospettiva nella quale gli imprevisti possono essere rappresentati dalla durata dell'efficacia delle nuove combinazioni, dalla aderenza a trattamenti talvolta più complessi che nel passato, dalla insufficiente quantità di dati sulla tollerabilità a lungo termine e dalla capacità di controllare la replicazione virale nei *reservoir* (in particolare nel Sistema nervoso centrale).

A fronte di queste incognite, tutte e tre le nuove molecole hanno potenzialità che possono garantire un più favorevole *management* dei ceppi virali multiresistenti nel paziente sieropositivo andato incontro a molteplici fallimenti terapeutici.

La nuova generazione di NNRTI (etravirina e rilpivirina), analogamente a quanto abbiamo osservato per i PI di ultima generazione, sembra avere una barriera genetica di resistenza meno vincolata a singole mutazioni primarie rispetto a efavirenz e nevirapina.

Gli inibitori dell'integrasi, oltre all'elevata efficacia, stanno mettendo in luce risultati interessanti sulla capacità di controllare la replicazione virale nelle cellule *resting* dei *reservoir*. I CCR5-*antagonist*, infine, hanno indubbiamente il valore aggiunto dell'entità dell'immuno-ricostruzione che riescono ad ottenere, particolarmente rilevante nelle popolazioni di pazienti in cui sono stati impiegati.

E' tuttavia l'insieme delle molecole diventate disponibili in tempi così ravvicinati l'elemento di maggior interesse, poiché ci consente di rivedere la terapia antiretrovirale nel suo complesso, non più condizionati dalla logica di correggere il tiro con un singolo farmaco in caso di tossicità o inefficacia. La "monoterapia funzionale", infatti, è destinata in breve tempo ad un probabile fallimento.

In prospettiva possiamo prevedere che, considerando i diversi bersagli contro i quali gli antiretrovirali di cui disponiamo sono diretti, potremo ridisegnare terapie di combinazione "divergenti", in grado di interferire con le modalità di replicazione del virus in differenti contesti e momenti della sua riproduzione nelle cellule bersaglio dell'ospite.

Quando avremo a disposizione maggiori informazioni sui risultati ottenuti con le nuove terapie di combinazione, attualmente in fase di sperimentazione anche nei pazienti *naive*, e quando saranno disponibili maggiori dettagli sulle loro modalità di interferire con i processi di ingresso, integrazione e trascrizione di HIV, le strategie di intervento terapeutico potranno essere ridisegnate sulla base di un razionale eziopatogenetico più solido.

Fin d'ora pertanto dobbiamo cominciare a porci obiettivi e traguardi più ambiziosi rispetto al passato. Seppur con le dovute cautele, legate al breve periodo di osservazione in base ai risultati finora ottenuti non si può escludere che il prossimo passo possa essere quello di "normalizzare" la quasi totalità dei pazienti sieropositivi: con una viremia negativa (con un virus confinato in alcuni *reservoir*) ed una capacità di risposta immunitaria pressoché normale (> 500 CD4/mm³).

Dati sperimentali e considerazioni speculative sulla profilassi post- e pre-esposizione

Gabriella De Carli
Vincenzo Puro
Giuseppe Ippolito
*Dipartimento di
Epidemiologia e Ricerca Pre-
clinica-Centro di riferimento
AIDS Istituto Nazionale
per le Malattie Infettive Laz-
zaro Spallanzani, Roma*

Profilassi post-esposizione da HIV: la pillola del giorno dopo?

Sebbene la prevenzione primaria attraverso una riduzione dei comportamenti a rischio costituisca la prima linea di difesa contro l'infezione da HIV, la profilassi con farmaci anti-retrovirali (ARV) in caso di esposizione sessuale a rischio, o di esposizione parenterale quale lo scambio di siringa (Non occupational Post-Exposure Prophylaxis, nPEP) è considerata un'importante opportunità quando gli sforzi preventivi non fossero attuabili, come durante una violenza (1), o abbiano fallito, come nel caso di rottura o scivolamento del *condom* in una coppia discordante. La nPEP va, quindi, inclusa tra le informazioni da fornire ai soggetti HIV per permettere ai *partner* in caso di esposizione di intraprenderla in tempo utile, cioè prima possibile e comunque entro 24-72 ore.

Le preoccupazioni circa un possibile aumento dei comportamenti a rischio si sono rivelate infondate: l'accesso alla nPEP sembra, anzi, essere associato ad una diminuzione di tali comportamenti (2).

Studi in soggetti con comportamenti sessuali a rischio hanno dimostrato una minore incidenza di infezioni in coloro che hanno fatto ricorso alla nPEP (3). Per contro, sono stati osservati casi di fallimento (4); nell'ambito del Registro Italiano (IRAPEP) ne sono stati identificati tre. Fattori quali intervallo fra esposizione ed inizio, concomitante esposizione ad altri patogeni, traumatismi locali, risposta immunitaria locale e concentrazione di virus nella fonte potrebbero rendere l'efficacia della nPEP diversa rispetto a quella occupazionale; alcuni casi però, e fra questi anche due rilevati in IRAPEP, sono forse più da attribuire a ripetute esposizioni successive o precedenti la nPEP, sottolineando la necessità di informare le persone a rischio sull'uso appropriato, le modalità di assunzione e la potenziale efficacia della nPEP possibilmente in anticipo rispetto ad un'eventuale esposizione, ma comunque sempre all'interno di un *counselling* volto all'adozione di pratiche sessuali sicure, rafforzando i messaggi preventivi nel colloquio con entrambi i *partner*.

La nPEP deve, infatti, costituire una misura estrema di emergenza, data la sua potenziale tossicità; in IRAPEP oltre il 60% dei soggetti ha riportato effetti collaterali, con interruzione della terapia nel 28% dei casi; l'incidenza di effetti gravi con ospedalizzazione, quali nefrolitiasi, eruzione cutanea o epatite tossica, è stimata in circa lo 0.7% (5-6). Inoltre, è stato riportato almeno un caso di evento avverso non reversibile conseguente a trattamenti ripetuti (7).

Dal momento che la maggior parte delle esposizioni ad HIV non determinano trasmissione, la potenziale tossicità della nPEP deve essere attentamente presa in considerazione nell'offrirgliela e deve essere discussa con l'esposto; nelle donne, inoltre, va ricordata la concomitante possibilità di una gravidanza.

Dagli studi sulla trasmissione sessuale e verticale, è accertato che il rischio risulta tanto più

La profilassi post-esposizione (nPEP) dovrebbe essere considerata una misura estrema di emergenza, per la potenziale tossicità, e discussa con il soggetto esposto; l'accesso alla nPEP si associa alla riduzione dei comportamenti a rischio



I dati sulla profilassi pre-esposizione sono controversi e un modo d'uso può essere fornire i farmaci ai soggetti a rischio dopo un accurato counselling

elevato quanto maggiore è la viremia plasmatica della fonte, anche se non è stato individuato un limite al di sotto del quale la trasmissione non risulta più possibile. Non è, invece, del tutto chiarito quanto la terapia ARV altamente efficace (HAART), raggiungendo livelli di virus non misurabili o comunque riducendo la carica virale del soggetto infetto, modifichi la trasmissibilità del virus.

È stato dimostrato che la carica virale nelle secrezioni genitali non corrisponde necessariamente a quella ematica, e che la concentrazione raggiunta dai farmaci ARV in tali compartimenti può determinarne una diminuzione e presumibilmente influenzare la possibilità di trasmissione dell'infezione. Studi condotti in Africa indicano una riduzione dell'80-98% della trasmissione dell'infezione ai *partner* negativi dei pazienti in HAART in confronto ai controlli non in terapia (8), ed è stato riportato come non siano stati osservati casi di trasmissione in occasione di una gravidanza naturale in coppie discordanti in cui il/la *partner* HIV aveva viremia non dosabile durante HAART (9).

Queste conclusioni non vengono però confermate in altri studi su popolazioni omosessuali (10). Recentemente, la Commissione Federale Svizzera per l'HIV ha diffuso un *Consensus statement* in cui si afferma che le persone in HAART con viremia non misurabile da almeno 6 mesi e non affette da malattie sessualmente trasmissibili non sono contagiose per via sessuale (11).

In conclusione, la HAART potrebbe avere il potenziale beneficio di ridurre la trasmissione, ma anche il potenziale rischio di prolungare il periodo di contagiosità.

Profilassi pre-esposizione: una strada percorribile?

Dati da studi animali hanno acceso l'interesse per la profilassi pre-esposizione (PrEP) come strategia per prevenire l'infezione da HIV in alcuni gruppi di popolazione maggiormente esposti (12); altri studi hanno fornito però dati molto meno incoraggianti (13). Le esperienze nell'uomo sono ancora scarse (14); un modello matematico ha stimato che postulando un'efficacia del 90% e mirando la PrEP, nei prossimi 10 anni potrebbero essere evitate approssimativamente da 2.7 a 3.2 milioni di nuove infezioni nell'Africa sub-sahariana; d'altro canto, tali benefici andrebbero persi se l'efficacia scendesse al 50% (15).

Una forma di PrEP in uso è quella di fornire i farmaci ai soggetti con possibili comportamenti a rischio dopo averli ben informati sulle adeguate misure di prevenzione da adottare e sulla possibilità di utilizzare i farmaci come *extrema ratio* solo in caso di effettiva necessità (rottura del condom). Peraltro nelle esperienze fin qui condotte, il rischio di nuove infezioni è risultato solo lievemente minore nei gruppi ai quali è stata fornita la PrEP, mentre sono stati segnalati comunque casi di fallimento.

Nel *counselling* alle coppie discordanti o ai soggetti ad alto rischio va, quindi, ribadito che sia la nPEP che la PrEP non vanno considerate misure di prevenzione e non sono infallibili.

L'aderenza alle misure di prevenzione raccomandate, in particolare l'uso costante del *condom* anche nei rapporti orali, rappresenta una soluzione ancora irrinunciabile per contrastare la diffusione del virus.

Sia la profilassi pre, che quella post-esposizione sono misure preventive e non sono infallibili, l'uso del condom rimane il cardine della prevenzione

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. **Stephenson J.** PEP talk: treating nonoccupational HIV exposure. *JAMA* 2003;289:287-8.
2. **Martin JN, Roland ME, Neilands TB, et al.** Use of postexposure prophylaxis against HIV infection following sexual exposure does not lead to increases in high-risk behavior. *AIDS* 2004;18:787-92.
3. **Schechter M, do Lago RF, Mendelsohn AB, Moreira RI, Moulton LH, Harrison LH, Praca Onze Study Team.** Behavioral impact, acceptability, and HIV incidence among homosexual men with access to postexposure chemoprophylaxis for HIV. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;35:519-25.
4. **Roland ME, Neilands TB, Krone MR, et al.** Seroconversion following nonoccupational postexposure prophylaxis against HIV. *Clin Infect Dis* 2005;41:1507-13.
5. **Lot F, Larsen C, Baum-Parmentier V, Laporte A.** Sexual HIV postexposure prophylaxis (PEP) in France. *Eighth Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Chicago, February 2001 [abstract 226]*.
6. **Laporte A, Jourdan N, Bouvet E, Lamontagne F, Pillonel J, Desenclos JC.** Post-exposure prophylaxis after non-occupational HIV exposure: impact of recommendations on physicians' experiences and attitudes. *AIDS* 2002;16(3):397-405.
7. **Mauss S, Berger F, Carls H, Schmutz G.** Rapid development of central adiposity after postexposure prophylaxis with antiretroviral drugs: a proof of principle? *AIDS* 2003;17:944-5.
8. **Bunnell R, Ekwaru JP, Solberg P, et al.** Changes in sexual behavior and risk of HIV transmission after antiretroviral therapy and prevention interventions in rural Uganda. *AIDS* 2006;20:85-92.
9. **Barreiro P, del Romero J, Leal M, et al.** Natural pregnancies in HIV-serodiscordant couples receiving successful antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;43:324-6.
10. **Dukers NH, Spaargaren J, Geskus RB, Beijnen J, Coutinho RA, Fennema HS.** HIV incidence on the increase among homosexual men attending an Amsterdam sexually transmitted disease clinic: using a novel approach for detecting recent infections. *AIDS* 2002;16:F19-F24.
11. **Vernazza P et al.** Les personnes séropositives ne souffrant d'aucune autre MST et suivant un traitement antirétroviral efficace ne transmettent pas le VIH par voie sexuelle. *Bulletin des médecins suisses* 89 (5). 2008.
12. Centers for Disease Control and Prevention CDC trials of pre-exposure prophylaxis for HIV prevention: clinical trials in Botswana, Thailand, and the United States. Available at: <http://www.cdc.gov/hiv/resources/factsheets/prep.htm>.
13. **Subbarao S, Otten RA, Ramos A, et al.** Chemoprophylaxis with tenofovir disoproxil fumarate provided partial protection against infection with simian human immunodeficiency virus in macaques given multiple virus challenges. *J Infect Dis* 2006;194:904-11.
14. **Grant RM, Buchbinder S, Cates W Jr, et al.** Promote HIV chemoprophylaxis research, don't prevent it. *Science* 2005;309:2170-1.
15. **Abbas UL, Anderson RM, Mellors JW.** Potential Impact of Antiretroviral Chemoprophylaxis on HIV-1 Transmission in Resource-Limited Settings. *PLoS ONE* 2007;2:e875. doi:10.1371/journal.pone.0000875.



Giuseppe
Tambussi

Dipartimento
di Malattie Infettive
e Tropicali,
Istituto Scientifico
San Raffaele,
Milano

L'infezione acuta da HIV

Durante l'infezione acuta si verifica un'attivazione generalizzata del sistema immunitario e contemporaneamente una deplezione dei linfociti T associati al GALT

Per infezione acuta si intende la prima fase dell'infezione da HIV ed è il periodo compreso tra il momento dell'infezione e la completa sierconversione sierologica; la durata di questa fase è convenzionalmente di sei mesi ed è caratterizzata da una serie di segni e sintomi aspecifici che vengono raggruppati nella cosiddetta sindrome retrovirale acuta (ARS). Dal punto di vista clinico i sintomi della sindrome retrovirale acuta sono compatibili con quelli di un'infezione da virus influenzali o da Epstein-Barr o da CMV, solo nel 10% dei casi i sintomi sono assenti. L'esordio dei sintomi si verifica da una a sei settimane dall'esposizione del virus, ma raggiunge un picco intorno alle tre settimane e coincide con la fase di rapida replicazione virale. I sintomi si risolvono di solito nel giro di 10-15 giorni e si associano a una diminuzione della conta linfocitaria nel sangue, a trombocitopenia, ad un aumento degli indici di flogosi, delle transaminasi e della fosfatasi alcalina. La **tabella 1** riassume i sintomi più frequenti della ARS.

Le caratteristiche cliniche della ARS rendono la diagnosi di infezione acuta da HIV un evento sporadico.

La diagnosi dell'infezione acuta si avvale dell'uso dei test di *screening* per l'infezione da HIV (ELISA) che nelle prime settimane possono, però, dare risultati negativi, anche se i test di ultima generazione si positivizzano nel corso delle due settimane successive al momento dell'infezione. Nel sospetto di un'infezione acuta da HIV è, quindi, opportuno eseguire un *Western Blot*, che solitamente mostra immediatamente la presenza di anticorpi anti p24 e successivamente compaiono gli anticorpi per gli altri antigeni. Il *marker* più sensibile dell'infezione da HIV è la viremia plasmatica, che è marcatamente elevata in tutti i pazienti e la misurazione di questo parametro è da affiancarsi alla misurazione dei linfociti T CD4+, CD8+ e del rapporto CD4/CD8 mediante citofluorimetria.

Infatti durante l'infezione acuta si assiste inizialmente a una diminuzione dei linfociti T CD4+ e CD8+ circolanti, seguita, dopo alcune settimane, da un loro aumento. Il calo dei linfociti T è dovuto sia al sequestro di queste cellule a livello del tessuto linfoide e sia, successivamente, alla citolisi provocata dal virus. L'aumento delle cellule CD8+ è, però, superiore di quello delle cellule CD4+ e ciò porta a un'inversione del rapporto CD4/CD8.

Dopo l'infezione c'è un aumento della viremia plasmatica, che corrisponde a una fase d'intensa replicazione virale e di alta infettività. In seguito la viremia scende, parallelamente all'aumento dei linfociti T e a ciò contribuisce la risposta citotossica specifica dei linfociti T CD8+ nei confronti del virus. Fin dall'inizio, infatti, il sistema immunitario reagisce all'infezione virale con la risposta citotossica CD8 mediata, a differenza degli anticorpi neutralizzanti che sono prodotti solo in seguito.

Un aspetto molto interessante, che è emerso dagli studi di Douek *et al.* fatti sia sui macachi infettati da SIV che sui soggetti HIV+, è la rapida deplezione dei linfociti CD4+ dal tessuto linfoide associato alle mucose del tratto gastrointestinale (GALT) durante le primissime fasi dell'infezione acuta da HIV.

Tabella 1 Frequenza dei segni e sintomi della sindrome retrovirale acuta (ARS)

Segni e sintomi	Frequenza (%)
Febbre	75
Faringite	39
Linfoadenopatia	45
Cefalea	19
Astenia	28
Rash	27
Candidosi orale	3
Candidosi esofagea	3
Alterazioni ematologiche	
<i>Piastrinopenia</i>	11
<i>Leucopenia</i>	5
Aumento transaminasi	16
Calo ponderale	10
Artromialgie	15
Ulcere cavo orale	7
Ulcere genitali	2
Iperamilasemia	2
Disturbi neurologici	
<i>Parestesie</i>	3
<i>Meningo-encefalite</i>	2
<i>Paralisi di Bell</i>	1
Disturbi gastro-enterici	
<i>Nausea/vomito</i>	6
<i>Diarrea</i>	5
Polmonite	1
Sepsi	2
Splenomegalia	1
Asintomatico	11

Dal punto di vista clinico i sintomi della sindrome retrovirale acuta sono compatibili con quelli di un'infezione da virus influenzali o da Epstein-Barr o da CMV, solo nel 10% dei casi i sintomi sono assenti

Gli studi sui macachi mostrano che la deplezione dei linfociti T CD4+ da questi tessuti sia dell'80% nei primi 17 giorni dell'infezione. Per determinare questi eventi, sono state effettuate biopsie del tessuto linfoide mesenterico e digiunale sia in macachi infettati da SIV che in macachi non infetti. Gli stessi studi sono stati condotti su soggetti infetti da HIV e su soggetti sani e hanno mostrato che, durante l'infezione acuta, c'è una attivazione massiva del sistema immunitario e contemporaneamente una deplezione dei linfociti T associati al GALT. Non è ancora perfettamente chiaro, però, se questa totale distruzione di linfociti T CD4+ sia causata da un effetto diretto del virus o è conseguenza dell'attivazione generalizzata del sistema immunitario indotta dal virus stesso.



Ancora aperta la questione del trattamento: i risultati dello studio SPARTC potranno dirimere i dubbi sull'utilità di una HAART nella fase acuta dell'infezione da HIV

Trattare o non trattare l'infezione acuta?

In una recente *review* pubblicata su AIDS da Don Smith, gli autori analizzano criticamente la non indifferente mole di dati pubblicata in tema di trattamento e infezione da HIV. La prima domanda riguarda la reale efficacia in termini immunovirologici della terapia iniziata precocemente rispetto ad una terapia introdotta in fase cronica. L'analisi di 3 studi non randomizzati suggerisce che pazienti trattati durante l'infezione acuta abbiano un ripristino più marcato dei CD4 in termini di numero assoluto ma non di percentuale rispetto a pazienti cronici. Anche la soppressione viremica appare più marcata.

Un'altra questione cruciale riguarda l'evoluzione a lungo termine dei pazienti trattati in fase acuta. L'analisi dei dati supporta la percezione che l'introduzione precoce di una terapia di combinazione con HAART rallenti la progressione di malattia. Di fatto però questa osservazione è poco dirimente.

Ancora: una terapia transitoria effettuata durante la fase acuta dell'infezione incide beneficamente sul *set point* virale o sulla progressione di malattia? Anche in questo caso le evidenze a favore di intervento positivo emerse in taluni studi vengono offuscate da dati meno confortanti.

Complessivamente pertanto si può affermare che, se da una parte la HAART sembra sopprimere la replicazione virale in maniera assolutamente efficace e frenare il rapido declino immunologico tipicamente osservabile in corso di infezione acuta da HIV, dall'altra non è ancora stato dimostrato un beneficio a lungo termine.

In conclusione può, quindi, essere affermato che il concetto di un trattamento precoce dell'infezione da HIV è stato decisamente rivisitato negli ultimi anni. La mancanza di studi randomizzati di adeguata potenza statistica che possano dirimere il dubbio circa l'utilità di un trattamento in questa fase dell'infezione, potrebbe essere colmata dallo studio SPARTC (comparazione randomizzata di tre schemi di intervento: no terapia vs. ART per 6 mesi vs. ART per 12 mesi) che ha terminato gli arruolamenti nel 2007 e che darà i primi risultati alla fine del 2009.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. **Gordon SN, Klatt NR, Bosinger SE, Brenchley JM, Milush JM, Engram JC, Dunham RM, Paiardini M, Klucking S, Danesh A, Strobert EA, Apetrei C, Pandrea IV, Kelvin D, Douek DC, Staprans SI, Sordora DL, Silvestri G.** Severe depletion of mucosal CD4+ T cells in AIDS-free simian immunodeficiency virus-infected sooty mangabeys. *J Immunol.* 2007 Sep 1;179(5):3026-34.
2. **Smith DE, Walker BD, Cooper DA, Rosenberg ES, Kaldor JM.** Is antiretroviral treatment of primary HIV infection clinically justified on the basis of current evidence? *AIDS.* 2004 Mar 26;18(5):709-18. Review.
3. **Yerly S, Perneger TV, Vora S, Hirschel B, Perrin L.** Decay of cell-associated HIV-1 DNA correlates with residual replication in patients treated during acute HIV-1 infection. *AIDS.* 2000 Dec 22;14(18):2805-12.

Verso nuove strategie per il trattamento del paziente naïve, naïve avanzato, AIDS presenter

Giovanni Di Perri
Clinica di Malattie
Infettive, Università
degli Studi di Torino

Sulla base del recente studio di Zolopa, viene riconosciuto per la prima volta il carattere d'urgenza della ARV dei pazienti HIV+ advanced naïve

La definizione di paziente con infezione da HIV mai sottoposto in precedenza a terapia antiretrovirale (*naïve*), ed il cui profilo complessivo (clinico, immunitario e virologico) lo colloca in una fase già avanzata di malattia o comunque di deterioramento immunitario, non è stata di fatto mai rigorosamente codificata, ed i termini con cui questi pazienti vengono identificati (*advanced naïve*, *AIDS presenters*) si prestano ad ampie accezioni interpretative. A prescindere da ciò che si vuole precisamente intendere con tali definizioni, resta il fatto che si tratta di pazienti con una prognosi generalmente peggiore rispetto a quanto altrimenti atteso, con particolare riferimento alla risposta alla terapia antiretrovirale. Nonostante ciò sia universalmente ammesso, in nessun caso le linee guida terapeutiche prevedono un trattamento diverso in funzione della gravità iniziale del paziente.¹

Riferendosi ad altri contesti terapeutici, è importante invece ricordare come, ad es., nella terapia della polmonite pneumococcica vengano consigliati trattamenti molto diversi secondo le condizioni di gravità del paziente,² un principio quest'ultimo spesso presente ed applicato nella terapia delle malattie da infezione. Il perchè in terapia antiretrovirale questo principio non sia stato fin qui seguito è facilmente ravvisabile nella mancanza di sperimentazioni cliniche dedicate a questa estrema tipologia di paziente, carenza quest'ultima verosimilmente riconducibile ad uno scarso interesse commerciale in tal senso percepito dall'industria farmaceutica. In un panorama altrimenti in favorevole crescita per quanto riguarda le opzioni terapeutiche, in realtà il problema dell'*advanced naïve* trova sempre maggiori attenzioni fra gli addetti ai lavori. Nell'ultimo CROI Andrew Zolopa ha presentato lo studio ACTG A5164 nel quale sono stati valutati i risultati della terapia antiretrovirale in due gruppi di pazienti classificabili appunto come *advanced naïve*.³ Si è trattato di una casistica di pazienti significativamente compromessi da un punto di vista immunitario (mediana dei linfociti T-CD4+ di 29 cellule/ μ L), caratterizzati però da una prognosi a brevissimo termine non proibitiva (assenza di condizioni associate non suscettibili di adeguata terapia).

I pazienti sono stati sottoposti a terapia antiretrovirale secondo due strategie: **a**) la prima prevedeva l'inizio della terapia antiretrovirale entro 14 giorni dall'inizio del trattamento dell'infezione opportunistica associata, **b**) la seconda prevedeva invece un inizio ritardato, compreso fra le 4 e le 12 settimane dall'inizio della terapia dell'infezione opportunistica. Questo disegno di studio ha comportato valori mediani di inizio della terapia antiretrovirale rispettivamente di 12 e 45 giorni a partire dal primo giorno di trattamento dell'infezione opportunistica. Il gruppo di soggetti sottoposti a terapia antiretrovirale precoce ha fatto registrare un rischio di progressione della malattia e/o di decesso significativamente inferiore rispetto ai pazienti nei quali la terapia antiretrovirale è stata iniziata successivamente (14.2% vs 24.1%; $p = 0.035$), risultato questo in stretta coerenza con un aumento dei linfociti T-CD4+ più rapido nel gruppo con te-



Negli advanced naive la scelta della terapia si orienta verso strategie di induzione-mantenimento che prevedono l'utilizzo di farmaci in grado di ottenere un importante recupero immunitario

rapia antiretrovirale precoce ($P = 0.023$, HR 0.53, 99% CI 0.26 to 1.09). Trattandosi di uno studio randomizzato su 282 soggetti e, quindi, adeguato sia da un punto di vista metodologico che numerico, i risultati vengono a costituire un primo solido riferimento per determinare una svolta in questa fin qui trascurata problematica. I risultati dello studio di fatto introducono (conferendogli una dimensione numericamente definibile) il carattere d'urgenza nella terapia antiretrovirale, stabilendo quindi definitivamente il fatto che, in pazienti classificabili quali "advanced naïve", un inizio tempestivo della terapia antiretrovirale produce effetti favorevoli misurabili.

La domanda successiva, a cui dare risposta, è, quindi, adesso quella che concerne la scelta della terapia da utilizzare, e quindi se esiste un approccio terapeutico che possa dare vantaggi in questa particolare sottopopolazione di pazienti. Nello studio ACTG A5164 i farmaci antiretrovirali resi disponibili sono stati lopinavir/ritonavir, tenofovir, emtricitabina e stavudina, lasciando però libertà responsabile di scelta di eventuali altri farmaci. La questione, a mio avviso, non è solo quella di una scelta fra i regimi a tre farmaci convenzionali, ma eventualmente di sperimentare una strategia che preveda, almeno inizialmente, il ricorso ad altre risorse terapeutiche addizionali e non sostitutive. Un disegno del tipo induzione-mantenimento sembra prestarsi alla circostanza, benchè si sia oggi ancora in difficoltà nell'identificare i livelli più utili dei parametri clinici, immunovirologici ed eventualmente cronologici da adottare nel definire la durata della fase di induzione. La crescita dell'armamentario terapeutico ci permette oggi qualche ipotesi speculativa circa la scelta degli antiretrovirali da affiancare ai regimi convenzionali nella terapia antiretrovirale dell'*advanced naïve*.

Da una parte troviamo gli inibitori dell'integrasi, ed in particolare raltegravir,⁴ che ha fatto registrare un elevatissimo rendimento farmacodinamico per quanto concerne la rapidità nel determinare la caduta della carica virale, dall'altra parte sono da riconoscere agli inibitori dell'ingresso virale oggi disponibili, e quindi sia all'enfuvirtide che al maraviroc, significative proprietà nel promuovere il recupero immunitario.^{5,6} In considerazione del diverso significato dei due parametri in oggetto, la mia opinione è che ci si debba orientare innanzitutto verso farmaci in grado di apportare un incremento addizionale sul versante del recupero immunitario, parametro quest'ultimo che più della carica virale condiziona la prognosi del paziente.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents January 29, 2008 Developed by the DHHS Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents -A Working Group of the Office of AIDS Research Advisory Council (OARAC).
2. **Gilbert DN, Moellering RC, Eliopoulos GM, Sande MA.** The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy. 38th Edition, 2008. *Antimicrobial Therapy, Inc, Sperryville, VA, USA.*
3. **Zolopa A, Andersen J, Komarow I, et al.** Immediate vs deferred ART in the setting of acute AIDS-related opportunistic infection: final results of a randomized strategy Trial, ACTG A5164. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. February 3-6, 2008. Boston. Abstract 142
4. **Markowitz M, Bach-Yen N, Gotuzzo E, et al.** Rapid and Durable Antiretroviral Effect of the HIV-1 Integrase Inhibitor Raltegravir as Part of Combination Therapy in Treatment-Naïve Patients With HIV-1 Infection: Results of a 48-Week Controlled Study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2007; 46(2):125-133.
5. **Aquaro S, D'Arrigo R, Svicher V, et al.** Specific mutations in HIV-gp41 are associated with immunological success in HIV-1-infected patients receiving enfuvirtide treatment. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58: 714-22.
6. **Saag M, Iye P, Heera J, et al.** A multicenter, randomized, double-blind, comparative trial of a novel CCR5 antagonist, maraviroc versus efavirenz, both in combination with Combivir (zidovudine/lamivudine), for the treatment of antiretroviral naïve subjects infected with R5 HIV-1: week 48 results of the MERIT study. 4th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment, and Prevention. July 22-25, 2007. Sydney. Abstract WESS104

Il primo fallimento

Franco Maggiolo

USC di Malattie Infettive,
US di Terapia Antivirale,
Ospedali Riuniti,
Bergamo

La disponibilità di un numero elevato di farmaci antiretrovirali appartenenti a più classi farmacologiche farebbe supporre che la gestione del primo fallimento virologico della HAART possa risultare agevole. Alcuni ricercatori hanno anche ventilato l'ipotesi che il fallimento della prima linea terapeutica possa essere gestito su basi puramente cliniche in assenza di esami specifici quali, ad esempio, il test di resistenza. In effetti, la facilità della gestione del primo fallimento è solo apparente e per molti versi dipende dagli obiettivi che ciascun terapeuta si pone.

La HAART moderna si basa su alcuni paradigmi che vanno ben oltre il mero controllo della replicazione virale. Oggi chiediamo che la HAART, almeno nelle prime linee di trattamento, sia semplice, basata su un numero ridotto di pillole e di dosi giornaliere e che, oltre a presentare una dimostrata efficacia antiretrovirale, sia anche rispettosa della qualità di vita dei pazienti ed aiuti a prevenire o, almeno, allontanare nel tempo l'insorgenza di effetti collaterali cronici come i dismetabolismi o le alterazioni della distribuzione del grasso corporeo. Inoltre la gestione strategica della HAART prevede che in ogni momento si tenti di preservare il massimo di opzioni future per il paziente.

Se prendiamo in considerazione tutti questi aspetti, la gestione del primo fallimento virologico diventa estremamente complessa e presenta più dubbi che certezze soprattutto in funzione del fatto che per molte possibili opzioni non sono, allo stato attuale delle cose, disponibili dati sperimentali.

Facciamo alcuni esempi. Consideriamo in prima istanza il *backbone* nucleosidico. Gli analoghi nucleosidici, o almeno alcuni di essi, ed in particolare i timidinici sono considerati oggi di seconda linea in quanto pesantemente implicati nei fenomeni di redistribuzione del grasso corporeo e nello sviluppo delle alterazioni metaboliche croniche conseguenti al danno mitocondriale. Gli analoghi timidinici possono agevolmente essere evitati nell'impostazione della prima HAART, ma in caso di fallimento della prima linea, è ancora possibile farne a meno? I dati della letteratura ci dicono che le mutazioni più comuni indotte da regimi liberi da timidinici ben difficilmente consentono di impostare una seconda linea di terapia costituita da tre farmaci attivi se si volesse, in ogni caso, ricorrere ad un *backbone* costituito da due inibitori della trascrittasi inversa.

In questo numero della rivista alcuni colleghi illustrano in dettaglio molti nuovi farmaci ed alcuni di questi farmaci potrebbero risultare ottime alternative, in termini di potenza, tollerabilità e maneggevolezza ad un *backbone* nucleosidico. Il condizionale è però oggi d'obbligo perché il loro utilizzo in fasi precoci della terapia antivirale ed in sostituzione degli analoghi nucleosidici non è sostanziato da dati sperimentali e si basa essenzialmente su speculazioni teoriche. Inoltre per questi farmaci poco si sa sulla tollerabilità a lunghissimo termine ed il loro utilizzo in fase precoce di trattamento potrebbe risultare un azzardo.

Anche la scelta del terzo farmaco, sempre che si possa parlare ancora di triplette farmacologiche, non è scevra da dubbi. Immaginiamo un paziente che fallisca una prima terapia basata

In caso di fallimento virologico della prima HAART è fondamentale preservare il maggior numero di opzioni farmacologiche alternative, tenendo conto della dinamica di selezione delle mutazioni e delle loro caratteristiche intrinseche



E' importante affrontare rapidamente qualsiasi aumento di HIV-RNA indicante replicazione attiva e considerarlo un vero e proprio fallimento virologico

su un inibitore della proteasi somministrato con *booster* di ritonavir (circa il 50% dei pazienti inizia la HAART così in Italia). I *trial* clinici ci dicono che nella grandissima maggioranza dei casi, al fallimento, non si evidenziano mutazioni in grado di indurre resistenza ai PI. Nondimeno le terapie falliscono. In modo semplicistico la causa di fallimento può essere riportata a scarsa aderenza, ma è sempre così? Non è possibile che esistano altre cause (ad es interazioni, alterazioni cinetiche o altro) che favoriscano il fallimento? E se così è, cosa conviene di più insistere sulla stessa classe con farmaco alternativo o cambiare classe farmacologica?

Per contro immaginiamo un paziente che abbia iniziato la HAART con un non nucleosidico. In base ai dati di letteratura in circa il 50% dei fallimenti è già presente una mutazione in grado di dare resistenza a tutta la classe. Saranno però prossimamente disponibili NNRTI di seconda generazione con una barriera genetica maggiore ed attivi anche in presenza di singole mutazioni. Ma ce la sentiremo di utilizzarli precocemente (per ridurre l'impatto metabolico ad esempio) e rischiare, in un paziente che ha già parzialmente selezionato resistenze a questi farmaci, di bruciare definitivamente questa opzione e mettere a rischio anche i farmaci associati alla terapia di seconda linea?

Indipendentemente dalle scelte terapeutiche effettuate, in caso di fallimento virologico della prima HAART è comunque fondamentale preservare il maggior numero di opzioni farmacologiche alternative. Ciò è possibile, tenendo conto della dinamica di selezione delle mutazioni e delle loro caratteristiche intrinseche. Non tutte le mutazioni hanno lo stesso "peso" per quanto riguarda la capacità di ridurre le opzioni terapeutiche e l'accumulo di resistenze multiple è generalmente un fenomeno che richiede tempo.

Alla luce di queste considerazioni, negli ultimi anni, nell'ambito della ricerca clinica, la gestione dei pazienti in prima linea di terapia è divenuta molto aggressiva, con un utilizzo immediato dei test genotipici inteso a riconoscere le mutazioni precoci, a limitare l'accumulo delle stesse ed a preservare, di conseguenza, il massimo di opzioni terapeutiche.

Nel complesso, ritengo questo approccio corretto ed oggi pienamente giustificabile alla luce delle possibilità terapeutiche a nostra disposizione e delle possibili opzioni che i nostri pazienti hanno in caso di fallimento terapeutico. Troppo spesso, però, in clinica, si propongono terapie solo parzialmente efficaci. Questa attitudine può derivare da presupposti virtuosi: sino a che sia presente una buona risposta immunologica ed una risposta virologica accettabile, non cambiare la HAART significa non sfruttare le alternative esistenti e quindi salvaguardarle, ma si scontra con l'evidenza dei fatti che dimostra come una tale strategia può esporre al rischio di accumulare resistenze aggiuntive indesiderate, causare *cross-resistenza* e quindi "bruciare" alternative mai effettivamente usate.

E' perciò necessario che la pratica clinica si adegui alla impostazione espressa dalla ricerca e che, in fase precoce di terapia, qualsiasi valore di HIV-RNA indicante replicazione virale attiva sia considerato un fallimento virologico e venga prontamente affrontato.

Terapia di salvataggio: pazienti pluritrattati o nuovi naive?

Andrea Antinori
Dipartimento Clinico,
INMI L. Spallanzani
IRCCS, Roma

Il problema dell'esaurimento delle opzioni terapeutiche rappresenta tuttora un aspetto rilevante nel *management* terapeutico del paziente HIV-positivo. Dati da studi osservazionali stimavano, alla fine del 2002, il 38% dei casi in terapia come già esposti alle tre classi principali di antiretrovirali. Di questi, circa un quarto aveva fallito alle tre classi principali (1). Nella storia naturale della terapia antiretrovirale, il fallimento alle principali tre classi di farmaci, rappresenta ancora una pietra miliare in grado di condizionare sia le successive strategie di trattamento che lo stesso rischio di progressione clinica (2-3). L'introduzione degli inibitori delle proteasi con *boost* di ritonavir (PIr) ha fatto evolvere il concetto di fallimento alle tre classi in quello di fallimento "esteso", definito come fallimento a regimi contenenti NRTI, NNRTI e PIr (*extensive triple-class failure*, ETCF). Per un paziente che inizia una terapia antiretrovirale con un regime potente, la probabilità di sviluppare un ETCF rimane ancora relativamente bassa, pari al 9.2% a 10 anni dall'inizio della terapia. Il rischio si riduce ulteriormente in presenza di cofattori favorevoli, quali più elevato numero di CD4 e una età più avanzata, ed appare in riduzione nel corso degli anni (14% in meno per ogni anno di calendario più recente), in rapporto ai miglioramenti della terapia (4).

In ogni caso il rischio di morte nei soggetti che hanno sperimentato un ETCF è stimato del 10.6% a 5 anni, decisamente più elevato del rischio di morte a 5 anni del paziente all'inizio della terapia, stimato, nel periodo 1998-2006, tra lo 0.4% e il 3.3% in soggetti tra i 25 e i 45 anni di età (5). Nonostante la condizione di ETCF rimanga un determinante di aumentata mortalità, dati osservazionali indicano che nel 60% di coloro che hanno sperimentato una condizione di ETCF si riesce comunque a ottenere successivamente almeno una soppressione virologica al di sotto delle 50 copie/mL di HIV-RNA, e nel 44% la soppressione veniva confermata in due rilevazioni successive, con una probabilità di ottenere una efficacia massimale del 40% a 1 anno. Tutto questo nonostante nei soggetti con ETCF una esposizione a nuove classi farmacologiche fosse limitata ad un 3% di casi in trattamento con enfuvirtide, con nessuna documentata esposizione ad antagonisti del recettore del CCR5 o ad inibitori delle integrasi (4).

Più complessa è l'analisi, nell'ambito dei pazienti con ETCF, di coloro che sperimentano una condizione di resistenza alle tre classi principali di antiretrovirali (*triple-class antiretroviral drug resistance*, TC-DR). I dati sulle resistenze al fallimento sono, infatti, disponibili in un numero più limitato di pazienti e in un ristretto numero di coorti. Dati di coorte in US stimano una prevalenza di TC-DR dell'8% in tutti i soggetti *experienced* alla terapia, con una incidenza di 13 casi per 1000 anni-persona di esposizione alla terapia (6). La prevalenza di resistenza estesa di classe risulta più elevata se calcolata solo sui pazienti di cui è disponibile un test di resistenza, e comunque diversa in rapporto alle differenti classi di esposizione al fallimento (28% per gli NRTI, 58% per gli NNRTI, 20% per i PI). La probabilità di sviluppare una multi resistenza aumenta con la durata della esposizione alla classe

L'introduzione di nuovi ARV ha condizionato l'evoluzione del concetto di fallimento alle 3 classi a fallimento "esteso", condizione in cui è ancora possibile ottenere la soppressione virologica



Nei pazienti pluri-falliti, l'introduzione di nuovi farmaci e di nuove classi ha modificato nettamente la prognosi, assicurando livelli di efficacia virologica ottenibili solo nei naive

e con l'aumentare dei fallimenti (7). Uno dei principali determinanti di accumulo di resistenza e conseguentemente dello sviluppo di multi resistenza di classe è dato dal mantenimento dello stesso regime in condizioni di perdurante fallimento, con un incremento di 1.96 mutazioni associate a resistenza in un periodo di osservazione di 6 mesi, e con una perdita netta, nello stesso periodo, di 1.25 farmaci attivi (8).

Negli ultimi anni, la progressiva introduzione di nuovi farmaci e classi, che ha visto i pazienti con ETCF come *target* preferenziale delle nuove molecole, ha radicalmente spostato la probabilità di ottenere una efficacia virologica massimale. Rispetto ad una probabilità di soppressione dell'8-10% detta terapia "di background", (OBT) l'aggiunta alla terapia di enfuvirtide ha inizialmente consentito di ottenere livelli di soppressione virologica <50 copie/mL di HIV-RNA nel 18%, e poi, tra gli inibitori delle proteasi di II generazione, tipranavir/r e in particolare darunavir/r hanno permesso di raggiungere una efficacia massimale rispettivamente nel 23% e 45% (9-11). L'introduzione di etravirina ha consentito, in soggetti con precedente fallimento a NNRTI e multi resistenza, di ottenere una soppressione <50 copie/ml di HIV-RNA nel 61% dei casi, rispetto al 41% dei controlli (12). Un ulteriore aumento delle chance di controllo della viremia nei pazienti multifalliti è stato di recente ottenuto con l'impiego di nuove classi farmacologiche, quali inibitori del CCR5 e inibitori delle integrasi. Ad una osservazione di 48 settimane, l'aggiunta di maraviroc alla OBT ha consentito di aumentare l'efficacia virologica massimale dal 25% al 49% (*Lalezari, 14th CROI 2007*), mentre quella di raltegravir di passare dal 33% dei controlli al 63% dei casi in trattamento con la nuova classe (14). Nei pazienti in trattamento con raltegravir, avendo la possibilità di combinare alla nuova classe darunavir/r e enfuvirtide in soggetti precedentemente *naive* per questi due farmaci, la frequenza di risposta virologica massimale <50 copie/mL di HIV-RNA arriva fino all'89% a 48 settimane dei soggetti trattati con raltegravir, valore fino a poco tempo fa raggiungibile unicamente nei *trials* in soggetti *naive* con i migliori risultati virologici.

L'insieme di tali risultati ha conseguentemente modificato la posizione delle principali linee-guida internazionali (15-16). La raccomandazione oggi dominante è quella di porre l'obiettivo della soppressione massimale come obiettivo prioritario anche nel paziente con pre-trattamento esteso e resistenza, analogamente a quanto da tempo codificato nei soggetti *naive*. Il principale fattore predittivo di aumentata risposta risulta il numero di farmaci attivi in base al Genotypic sensitivity score (GSS). Una risposta virologica dopo 24 settimane di terapia con tipranavir/r oscilla dal 13% in caso di nessun farmaco attivo combinato, al 55% dei casi in cui i farmaci attivi siano 3 o più. Analogamente una risposta virologica massimale è ottenibile in pazienti trattati con darunavir/r nel 54% dei casi di quelli con almeno 1 farmaco attivo nell'OBT, rispetto all'11% di coloro senza farmaci attivi. Altri fattori predittivi risultano una elevata carica virale, bassi livelli di CD4+, l'associazione con enfuvirtide nei casi senza precedente esposizione alla classe degli inibitori dell'*entry*. In conclusione, l'introduzione di nuovi farmaci e classi nei pazienti con estensiva esposizione agli antiretrovirali e fallimento alle tre classi principali, ha radicalmente modificato la prognosi di tali pazienti. L'impiego delle nuove classi è in grado di assicurare livelli di efficacia virologica finora conseguibili unicamente nel paziente *naive* o con limitata esposizione alla terapia. L'impatto delle nuove classi è in grado di conferire anche un beneficio clinico nel paziente pre-trattato, riducendo conseguentemente il rischio di progressione verso nuovi eventi di malattia e la morte (17-18).

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. **Sabin CA, Hill T, Lampe F, Matthias R, Bhagani S, Gilson R, et al.** Treatment exhaustion of highly active antiretroviral therapy (HAART) among individuals infected with HIV in the United Kingdom: multicentre cohort study. *BMJ* 2005;330:695-698.
2. **Grover D, Copas A, Green H, Edwards SG, Dunn DT, Sabin C, et al.** What is the risk of mortality following diagnosis of multidrug-resistant HIV-1? *J Antimicrob Chemother* 2008;61:705-713.
3. **Zaccarelli M, Tozzi V, Lorenzini P, Trotta MP, Forbici F, Visco-Comandini U, et al.** Multiple drug class-wide resistance associated with poorer survival after treatment failure in a cohort of HIV-infected patients. *AIDS* 2005;19:1081-1089.
4. **Phillips AN, Leen C, Wilson A, Anderson J, Dunn D, Schwenk A, et al.** Risk of extensive virological failure to the three original antiretroviral drug classes over long-term follow-up from the start of therapy in patients with HIV infection: an observational cohort study. *Lancet* 2007;370:1923-1928.
5. **Bhaskaran K, Hamouda O, Sannes M, Boufassa F, Johnson AM, Lambert PC, et al.** Changes in the risk of death after HIV seroconversion compared with mortality in the general population. *JAMA* 2008;300:51-59.
6. **Napravnik S, Keys JR, Quinlivan EB, Wohl DA, Mikeal OV, Eron JJ Jr.** Triple-class antiretroviral drug resistance: risk and predictors among HIV-1-infected patients. *AIDS* 2007;21:825-834.
7. **Tozzi V, Zaccarelli M, Bonfigli S, Lorenzini P, Liuzzi G, Trotta MP, et al.** Drug-class-wide resistance to antiretrovirals in HIV-infected patients failing therapy: prevalence, risk factors and virological outcome. *Antivir Ther* 2006;11:553-560.
8. **Cozzi-Lepri A, Phillips AN, Ruiz L, Clotet B, Loveday C, Kjaer J, et al.** Evolution of drug resistance in HIV-infected patients remaining on a virologically failing combination antiretroviral therapy regimen. *AIDS* 2007;21:721-732.
9. **Nelson M, Arastéh K, Clotet B, Cooper DA, Henry K, Katlama C, et al.** Durable efficacy of enfuvirtide over 48 weeks in heavily treatment-experienced HIV-1-infected patients in the T-20 versus optimized background regimen only 1 and 2 clinical trials. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2005;40:404-412.
10. **Hicks CB, Cahn P, Cooper DA, Walmsley SL, Katlama C, Clotet B, et al.** Durable efficacy of tipranavir-ritonavir in combination with an optimized background regimen of antiretroviral drugs for treatment-experienced HIV-1-infected patients at 48 weeks in the Randomized Evaluation of Strategic Intervention in multi-drug resistant patients with Tipranavir (RESIST) studies: an analysis of combined data from two randomised open-label trials. *Lancet* 2006;368:466-475.
11. **Clotet B, Bellos N, Molina JM, Cooper D, Goffard JC, Lazzarin A, et al.** Efficacy and safety of darunavir-ritonavir at week 48 in treatment-experienced patients with HIV-1 infection in POWER 1 and 2: a pooled subgroup analysis of data from two randomised trials. *Lancet* 2007;369:1169-1178.
12. **Lazzarin A, Campbell T, Clotet B, Johnson M, Katlama C, Moll A, et al.** Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment-experienced HIV-1-infected patients in DUET-2: 24-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2007;370:39-48.
13. **Lalezari J, Goodrich J, De Jesus E, Lampiris H, Gulik R, Saag M, et al.** Efficacy and safety of maraviroc plus optimized background therapy in viremic ART-experienced patients infected with CCR5-tropic HIV-1: 24-week results of a phase 2b/e study in the US and Canada. *14th Conference on Retrovirus and Opportunistic Infections; Los Angeles (CA), February 25-28, 2007. Abs. 104bLB.*
14. **Steigbigel RT, Cooper DA, Kumar PN, Eron JE, Schechter M, Markowitz M, et al.** Raltegravir with optimized background therapy for resistant HIV-1 infection. *N Engl J Med* 2008;359:339-354.
15. **Panel on antiretroviral guidelines for adults and adolescents.** Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescent. *Department of Health and Human Service (DHHS), January 29, 2008;1-128.*
16. **Hammer SM, Eron JJ Jr, Reiss P, Schooley RT, Thompson MA, Walmsley S, et al.** Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2008 recommendations of the International AIDS Society-USA panel. *JAMA* 2008;300:555-570.
17. **Zaccarelli M, Forbici F, Lorenzini P, Ceccherini-Silberstein F, Tozzi V, Trotta MP, Marconi P, et al.** Continuous evidence of fast HIV disease progression related to class-wide resistance to antiretroviral drugs: a 6 year follow-up analysis of a large observational database. *AIDS* 2007;21:1824-1826.
18. **Costagliola D, Potard V, Duvivier C, Pradier C, Dupont C, Salmon D, et al.** Impact of newly available drugs on clinical progression in patients with virological failure after exposure to three classes of antiretrovirals. *Antivir Ther* 2005;10:563-573.

A livello di linee guida, l'obiettivo è di ottenere la soppressione massimale anche nel paziente con pretrattamento esteso e resistenza, analogamente al paziente naive



Carlo Federico Perno

Cattedra di Virologia,
Università di Roma
"Tor Vergata"

Gli inibitori del CCR5

La disponibilità di farmaci inibitori dell'entrata del virus HIV assume una grande rilevanza nel panorama terapeutico dell'infezione

La disponibilità di farmaci inibitori dell'entrata del virus HIV nella cellula bersaglio apre la strada a nuove opzioni terapeutiche. Per la prima volta infatti un farmaco è finalizzato ad inibire non tanto una proteina virale, ma un recettore cellulare che funge da punto di ancoraggio e di entrata del virus stesso nella cellula bersaglio. **Ciò ha due valenze diverse e di segno opposto:**

- Da un lato, sussiste un teorico rischio di alterazione del funzionamento omeostatico dell'organismo, data la potenziale inibizione di un recettore avente funzioni naturali indipendenti da HIV. In realtà il blocco di recettori naturalmente presenti nel nostro organismo da parte di farmaci di larghissimo uso clinico è un evento estremamente comune. E' il caso di farmaci per patologie dismetaboliche (ipertensione, diabete, ecc), oncologiche (anticorpi monoclonali verso recettori specifici), immunitarie (artrite reumatoide), ecc. Pertanto l'evento "blocco recettoriale" non è nuovo nel panorama della medicina, e non deve sorprendere che tale opzione terapeutica sia oggi disponibile anche nella terapia dell'HIV. Al momento non ci sono evidenze che supportino l'ipotesi di rischi di tossicità/alterazione omeostatica da parte degli inibitori del CCR5, tuttavia è necessario un *follow up* a lungo termine per avere risposte esaurienti.
- Dall'altro, la sostanziale stabilità del genoma cellulare umano (invariante nel tempo rispetto a quello virale, di per sé altamente variabile), fa sì che lo sviluppo di resistenza ai farmaci inibitori del CCR5 sia più lento, o comunque debba perseguire strade più complesse rispetto alla semplice selezione di varianti virali preesistenti al trattamento.

L'“escape” virale agli inibitori dei recettori di superficie avviene attraverso due percorsi diversi e tra loro non collegati:

- Uno, di *switch* corecettoriale, da CCR5 a dual tropico (lo *switch* completo a CXCR4 è estremamente raro, e di fatto poco rilevante ai fini clinici), che il virus compie selezionando un ceppo in grado di utilizzare “anche” il recettore CXCR4 e quindi di evitare il collo di bottiglia dato dal recettore CCR5. In questo caso la selezione è bidirezionale, in quanto tutti i dati finora disponibili mostrano che il ceppo dual tropico compare sotto pressione farmacologica di inibitori del CCR5, e scompare non appena la pressione di tale farmaci viene rimossa.

Ciò fa pensare che il ceppo dual tropico abbia una suscettibilità al controllo immunitario maggiore rispetto al ceppo dipendente da CCR5, e che pertanto esso compaia nel paziente infettato solo in condizioni estreme, ossia quando il sistema immunitario è particolarmente compromesso (tipico il caso delle fasi tardive della malattia), oppure quando la pressione farmacologica elimina il ceppo CCR5-dipendente, e favorisce l'emersione del ceppo dual tropico. In entrambi i casi, il cosiddetto *switch* corecettoriale è un effetto del danno immunitario, e non una causa. Va da sé che, in

queste circostanze, lo *switch* corecettoriale sotto pressione di inibitori del CCR5 non è correlabile ad una progressione di malattia, come da qualcuno paventato.

- L'altro elemento da considerare è lo sviluppo di resistenza *tout court*, vale a dire non tanto lo *switch* corecettoriale, ma la vera e propria selezione di un ceppo che, essendo mutato, ha acquisito caratteristiche genetiche di resistenza all'inibitore del CCR5, pur mantenendo un tropismo per questo recettore. Tale evento è stato finora riscontrato più raramente del normale *switch* recettoriale, dimostrando la difficoltà che il virus incontra nel selezionare un siffatto ceppo virale. Al momento non conosciamo le mutazioni che sono associate alla resistenza vera e propria. Saranno necessari studi prolungati, e casistiche ampie, per dare riscontro a questo quesito di estrema importanza clinica. Oggi, però, possiamo già sostenere che l'evento "resistenza" agli inibitori del CCR5 avviene in modo erratico, imprevedibile, e non è associato nè a regole molecolari certe, nè tanto meno ad eventi clinici sostanziali, al di là dell'ovvio *rebound* virale che avviene alla comparsa di un ceppo divenuto, per ogni ragione, resistente al farmaco finora utilizzato.

E' necessario, a questo punto, introdurre due elementi innovativi, strettamente legati all'utilizzo degli inibitori di superficie:

- Il primo riguarda l'ampio recupero immunitario, in termini di numero di CD4, seguito al trattamento con inibitori del CCR5. Tale effetto non è passato inosservato, in quanto è sostanziale sia negli studi registrativi di maraviroc (e vicriviroc, anche se i dati disponibili con quest'ultima molecola sono molto meno rilevanti), sia nella pratica clinica corrente. Tale evento non sorprende più di tanto, considerando che la gp120, ligando naturale del CCR5 e del CD4, ha proprietà naturalmente citopatiche, attivando, con il suo semplice legame sulla superficie cellulare, una serie di messaggeri intracellulari che, da ultimo, generano la morte programmata (apoptosi). E' quindi evidente che la gp120 è citopatica di per sé, e quindi che il virus HIV ha un doppio effetto citopatico, uno legato alla sua replicazione, l'altro alle sue proteine di superficie. La conseguenza è che il blocco del legame della gp120 sul suo recettore naturale può disinnescare non solo la replicazione virale, ma anche quella sequela di fenomeni, non necessariamente correlati alla replicazione virale, che portano alla morte cellulare. Tale elemento ha un'ovvia valenza pratica, in quanto è ipotizzabile l'uso di inibitori di superficie di HIV come farmaci non solo in grado di controllare la replicazione virale, ma anche di implementare la risposta immunitaria in termini di numero di CD4. Percorsi di intensificazione terapeutica in pazienti con deficit immunitario (tipico degli *advanced naive*), e/o in pazienti in successo virologico ma non immunologico, sono già in corso di sperimentazione; i risultati saranno disponibili in tempi non particolarmente lunghi.

Per la prima volta un farmaco è finalizzato ad inibire un recettore cellulare che funge da punto di ancoraggio e di entrata del virus stesso nella cellula bersaglio



Gli inibitori di superficie di HIV rappresentano anche un validissimo strumento per le ricerche sulla patogenesi della malattia, i cui risultati potranno meglio indirizzare le terapie future

- Il secondo elemento riguarda la terapia divergente. Al momento, il principale limite ad un uso costante di terapie pienamente divergenti (ossia costituite da farmaci appartenenti a classi completamente diverse) è legato all'assenza (finora) di farmaci agenti su fasi completamente diverse del ciclo replicativo virale. Ora, grazie agli inibitori di superficie (anti-gp41 e anti-CCR5), associati agli inibitori dell'integrasi più o meno farmaci classici, è possibile valutare l'efficacia di questo approccio terapeutico, finalizzato a colpire fasi sequenziali del ciclo replicativo virale (*entry* + retrotrascrizione + integrazione + maturazione proteica). In tal modo è possibile aprire scenari totalmente nuovi in cui il controllo della replicazione virale sia particolarmente elevato e duraturo nel tempo, riducendo ulteriormente il rischio di evoluzione e di comparsa di ceppi resistenti.

In sostanza, l'uso degli inibitori di superficie rappresenta un aspetto di grande rilevanza nel panorama della terapia dell'infezione da HIV. Studi a lungo termine, nonché sinergie della clinica con la virologia e l'immunologia, permetteranno inoltre di capire più a fondo i meccanismi attraverso cui HIV produce i danni devastanti che ne caratterizzano l'infezione. In tale ottica, gli inibitori di superficie di HIV rappresentano anche un validissimo strumento per le ricerche sulla patogenesi della malattia, i cui risultati potranno meglio indirizzare le terapie future.

Saggi di sensibilità agli inibitori del CCR5

Claudia Balotta
Dipartimento di Scienze Cliniche "L. Sacco",
Sezione di Malattie Infettive e Immunopatologia,
Università di Milano

Lo studio dell'efficacia degli inibitori dell'entry (maraviroc: MVC, vicriviroc: VCV e aplaviroc: APV), antagonisti del corecettore CCR5, negli studi clinici di fase II e III (1-4) è stato accompagnato dallo sviluppo di saggi fenotipici per la valutazione concomitante sia del tropismo dei ceppi virali presenti nel plasma dei pazienti, sia della sensibilità a questa nuova classe di farmaci.

Il saggio fenotipico Trofile™

Trofile™ di Monogram è un saggio ricombinante per lo studio del tropismo dei ceppi di HIV-1 che determina contemporaneamente sia il tropismo dei ceppi virali presenti nel plasma dei pazienti sia la sensibilità fenotipica a questi farmaci (5). Esso è stato validato dalla *Food and Drug Administration* e viene suggerito, dalle Raccomandazioni del *Departement of Health and Human Sciences*, prima dell'impiego di un farmaco inibitore del CCR5, con evidenza AI e al fallimento virologico di una terapia contenente queste molecole, con evidenza BIII (6, 7). Per il suo allestimento sono stati costruiti 2 vettori molecolari. Il primo (pCXAS-PXMX) è un vettore di espressione costruito per ospitare le porzioni dell'intera gp120 dell'*envelope* dei ceppi virali estratti dal plasma dei pazienti per la creazione di una "libreria" (*eETV-library*). Il secondo (RTV1.F-lucP.CNDOΔU3) è un vettore genomico, difettivo per la replicazione in quanto delevato del V3, nel quale è stata inserita una porzione per l'espressione di un gene indicatore (luciferasi). Dopo estrazione dell'RNA virale dal plasma del paziente, retrotrascrizione, amplificazione, ligazione nel vettore pCXAS-PXMX e propagazione per la creazione della *eETV-library*, quest'ultima viene cotransfettata insieme al vettore RTV1.F-lucP.CNDOΔU3 nella linea cellulare HEK 293. La cotransfezione comporta, la formazione per ricombinazione omologa di ceppi virali pseudotipici (così definiti in quanto nel *background* di un genoma virale plasmidico è contenuto l'*envelope* dei virus del paziente) e la loro produzione nel supernatante. Gli pseudotipi virali vengono successivamente utilizzati per infettare due linee cellulari, ingegnerizzate dalla linea U87 per esprimere, insieme al recettore CD4, il recettore CCR5 oppure il recettore CXCR4, utilizzate per studiare l'ingresso rispettivamente dei ceppi R5-tropici o X4 tropici. Entrambe le linee vengono infettate sia in presenza sia in assenza del farmaco antagonista del loro corecettore: MVC o VCV o APV, per l'inibizione del CCR5 e AMD 1070 o Pro140 o per l'inibizione del CXCR4.

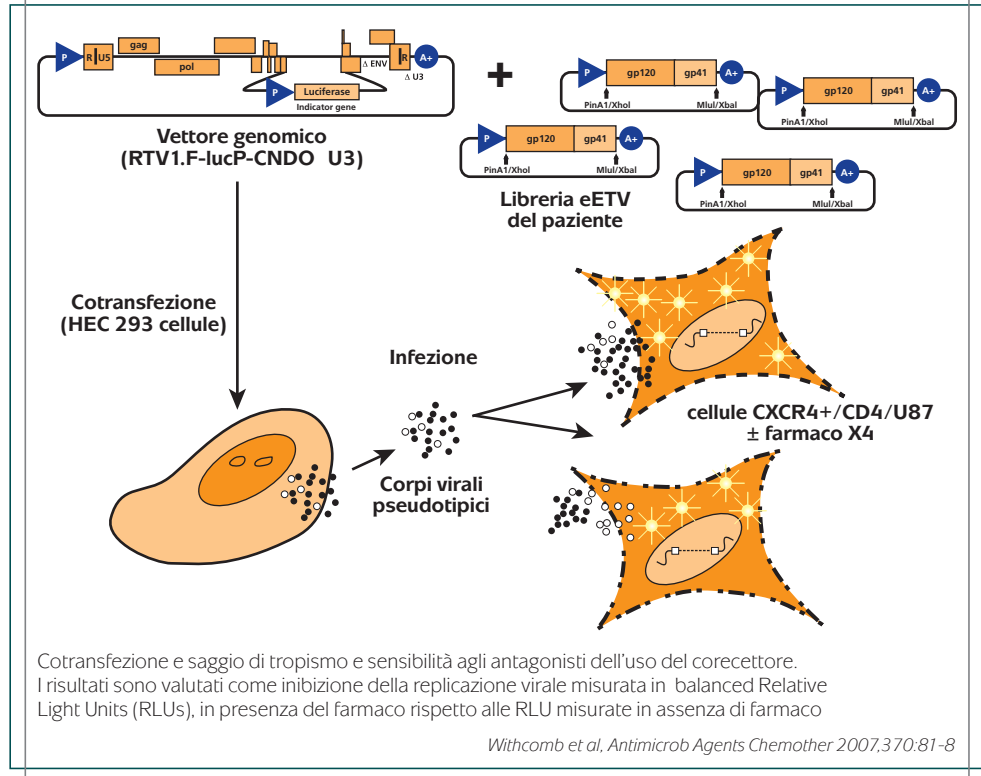
Il tropismo e l'inibizione della replicazione virale in presenza dei farmaci vengono studiati al primo ciclo replicativo mediante la valutazione dell'attività del gene luciferasi nelle cellule, di cui viene misurata l'emissione relativa di unità di luminescenza (*relative light units*, RLUs), che è tanto minore quanto maggiore è l'inibizione dell'uso del recettore attuata dal farmaco (Figura 1).

Come controlli positivi e negativi vengono utilizzate le stesse linee cellulari, in presenza o in assenza dei farmaci antagonisti dell'uso di R5 o X4, infettate da ceppi di laboratorio a tropismo noto: JRCSF come ceppo R5-tropico, NL4-3 o HXB2 come ceppi X4-tropici e 92HT594 come

Lo studio dell'efficacia degli inibitori del CCR5 è stato accompagnato dallo sviluppo di saggi fenotipici per la valutazione del tropismo dei ceppi virali e della sensibilità a questi farmaci

Il saggio ha un'elevata sensibilità (aumentata di circa 30 volte rispetto alla versione precedente) nella rilevazione delle popolazioni minoritarie X4 quando presenti allo 0.3%

Figura 1 Cotransfezione infezione e saggio di suscettibilità



ceppo dual-tropico o misto (D/M). Relativamente ai parametri che sono stati alla base della validazione del saggio i ricercatori di Monogram hanno dimostrato che **i)** la sua specificità è ottimale in quanto il plasma contenente altri virus non ha dato alcun risultato falso positivo; **ii)** l'accuratezza è elevata in quanto il 100% di 38 isolati saggati, appartenenti a 6 sottotipi distinti, avevano il tropismo atteso; **iii)** la riproducibilità, valutata mediante 1.140 comparazioni (utilizzando 3 stock virali, a due concentrazioni diverse, con 10 replicati a ogni diluizione, da parte di operatori diversi, con lotti distinti in un periodo di 4 settimane), ha indicato una concordanza del 100%; **iv)** la linearità del saggio non è influenzata dalla carica virale del campione e **v)** la sensibilità su campioni con una carica virale >1.000 copie/ml era del 95% (5).

La versione del saggio rilasciata molto recentemente e validata dal CLIA (*Clinical Laboratory Improvement Amendments*), ne ha aumentato la sensibilità mediamente di 30 volte, in quanto è in grado di rilevare le popolazioni minoritarie X4 quando presenti allo 0.3% (8).

La resistenza agli inibitori del CCR5

Gli studi preclinici degli inibitori dell'uso dei corecettori avevano indicato che queste molecole si legano al cosiddetto *bridging sheet domain*, che comprende il V3 ma anche porzioni diverse di gp120, le regioni ipervariabili V1/V2 e la regione costante C4 (9). Lo studio dell'emergenza di ceppi resistenti a MVC è stato condotto *in vitro* su 6 isolati virali dopo prolungato passaggio in coltura con concentrazioni crescenti di farmaco. Il ceppo macrofagotropico BaL e tre ceppi ottenuti da pazienti non mostravano *in vitro* emergenza di re-

sistenza dopo numerosi passaggi in coltura. Al contrario, 3 isolati mostravano di replicare nei PBMC in presenza del farmaco. In questi, come nei casi precedenti, le colture venivano condotte in parallelo in presenza e in assenza di MVC per controllare eventuali modifiche della sensibilità al farmaco durante il tempo di coltura.

Uno dei 3 isolati resistenti era andato incontro a *shift* nel tropismo acquisendo un tropismo X4; tuttavia ciò si era verificato anche per la sua coltura di controllo, indicando che l'effetto osservato non era dovuto al farmaco. La sequenza di *env* in questo isolato aveva messo in evidenza 3 mutazioni: I309R, A316V e A319T mentre l'isolato di controllo aveva solo le prime due sostituzioni. I rimanenti 2 isolati diventati resistenti mostravano, nei PBMC, una curva dose-risposta a MVC piatta, per la quale la IC50 non era calcolabile ma rimanevano R5 tropici. Quando i ceppi pre- e post- trattamento sono stati analizzati mediante il saggio PhenoSense HIV Entry, non veniva osservato lo *shift* nell'IC50; al contrario le curve dose-risposta erano incomplete e mostravano un *plateau* a meno del 90% dell'inibizione.

L'analisi clonale della popolazione virale post-trattamento ha indicato che ciò non era dovuto all'emergenza di una popolazione mista di ceppi R5 e X4 bensì a un nuovo meccanismo di resistenza ovvero la capacità dei ceppi virali resistenti di utilizzare per l'ingresso il recettore CCR5 malgrado il suo legame con MVC. In questo caso la resistenza a MVC era associata all'emergenza delle mutazioni A316T e I323V in un isolato mentre nell'altro, in aggiunta alla mutazione N322D, era osservata una delezione dei 3 aminoacidi (QAI) che seguono il *crown* (GPGR/Q) del V3. La reversione di queste mutazioni, ottenuta sperimentalmente, restituiva sensibilità a MVC (9).

Altre mutazioni, di significato non interamente definito, dovranno essere caratterizzate in studi futuri. Questi ceppi resistenti a MVC rimanevano suscettibili a T20 e VCV e, in analogia a quanto osservato per i ceppi resistenti alle altre classi di farmaci antiretrovirali, mostravano una capacità replicativa ridotta (9).

I sistemi di predizione del tropismo

Dopo l'identificazione del ruolo dei corecettori R5 e X4 sono state sviluppate procedure bioinformatiche, basate sul genotipo di porzioni dell'*envelope* virale, in grado di predire in modo rapido e accurato l'utilizzo del corecettore dei ceppi di HIV-1 presenti nei pazienti sulla base della sequenza dell'ansa V3 dell'*envelope* virale. In primo luogo è stata utilizzata una regola basata sulla carica degli aminoacidi in posizione 11 e 25 del V3 come predittore semplice del fenotipo NSI (Non-Sincizio Induttore) o SI (Sincizio Induttore) dei ceppi. Anche se essa ha una sensibilità e specificità maggiore del 90% nel predire il fenotipo NSI/SI, questa si riduce a meno del 60% nel predire il tropismo R5/X4 su base clonale ed è ulteriormente ridotta quando si utilizza la sequenza della popolazione virale maggioritaria dei campioni clinici (12). Inoltre, sono stati sviluppati metodi bioinformatici, definiti *in-silico* ad indicare fenomeni biologici derivanti da una simulazione matematica al computer, basati o su *support vector machines* (SVM) o su reti neurali (NN) o sulle *position specific scoring matrices* (PSSM). Essi sono disponibili su siti web (**geno2pheno**: <http://coreceptor.bioinf.mpi-inf.mpg.de>; **WetCat**: <http://genomiac2.ucsd.edu:8080/wetcat>; **WebPSSM**: <http://ubik.microbiol.washington.edu/computing/pssm/>) e sono stati confrontati per la loro specificità, sensibilità e concordanza con il saggio fenotipico Trofile™ (10, 11). Anch'essi mostrano un'elevata sensibilità nel predire il fenotipo SI (75% per SVM, 90% per le

Gli algoritmi predittivi dell'uso dei corecettori hanno elevata specificità, soprattutto se applicati a sequenze clonali dei sottotipi non B

Sono necessari ulteriori studi di correlazione tra i diversi metodi e tra questi e i dati clinici nei pazienti candidati all'uso degli inibitori dei corecettori e in coloro che hanno sviluppato resistenza a questi farmaci

Tabella 1 Sensibilità e specificità dei principali algoritmi di predizione dell'uso dei corecettori

Metodo	Algoritmi di predizione applicati a sequenze clonali di sottotipi B di HIV-1			Algoritmi di predizione applicati a sequenze dirette di sottotipi A e D di HIV-1		
	Sensibilità per X4 (%)	Specificità per X4 (%)	Concordanza (%)	Sensibilità per X4 (%)	Specificità per X4 (%)	Concordanza (%)
11/25 rule ¹	65.5	97.9	85.5	20	96.4	91.4
Decision tree ²	51.7	100	82.9	20	100	94.9
PSSM ³	69	100	82.2	60	90.9	89.8
Support vector machine ⁴	75.9	95.7	82.2	40	92.7	89.8

¹ Brumme Z, et al. AIDS 2004, 18:F1-F9

² WetCat: <http://genomic2.ucsd.edu:8080/wetcat>

³ WebPSSM: <http://ubik.microbiol.washington.edu/computing/pssm/>

⁴ geno2pheno: <http://coreceptor.bioinf.mpi-inf.mpg.de>

NN e 93% per le PSSM) mentre hanno evidenziato solo modesta riduzione della sensibilità di predizione dell'uso del recettore CXCR4 (67% per SVM, 75% per le NN e 62% per le PSSM) quando applicate a sequenze clonali dell'*env* di HIV-1 (10, 11).

Nella **Tabella 1** sono riportati i dati di confronto tra questi algoritmi su 76 isolati (29

Tabella 2 Principali indicazioni e limiti del saggio fenotipico Trofile™ e degli algoritmi basati sull'interpretazione del genotipo

Indicazioni e limiti del saggio TROFILE™	Limiti dell'interpretazione della sequenza dell'ANSA V3
<p>Strumento farmacogenomico per studiare l'efficacia dei farmaci antagonisti dell'uso del corecettore CCR5</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ per limitare l'esposizione dei pazienti candidati all'uso degli antagonisti del CCR5 ■ per monitorizzare lo switch nell'uso del corecettore in caso di fallimento virologico 	<p>Il valore attuale dell'uso delle sequenze dell'<i>envelope</i> è limitato da:</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ rilevazione della quasispecie virale ■ presenza di inserzioni e/o delezioni ■ determinanti del tropismo rilevanti in altre regioni dell'<i>envelope</i> ■ disponibilità limitata di dati relativi ai sottotipi non B

X4/DM e 47 R5), ottenuti da sequenze clonali del sottotipo B e 59 ceppi (5 DM e 54 R5) oppure ottenuti come specie maggioritaria, dei sottotipi A e D da parte di Monogram. Malgrado l'elevata specificità, la sensibilità e la concordanza non sono tuttavia soddisfacenti, in particolare quando i metodi sono applicati alle sequenze dei ceppi maggioritari dei sottotipi non B. Occorre infatti tener conto che questi sistemi sono stati applicati allo studio del solo V3 e non dell'intera gp120 e questo può rendere conto delle discrepanze osservate.

La **Tabella 2** riassume indicazioni e limiti dell'utilizzo del saggio Trofile™ e le problematiche attuali degli algoritmi predittivi dell'uso dei corecettori. Anche se entrambi rappresentano strumenti importanti per lo studio dell'uso dei corecettori della popolazione virale presente nei pazienti, i dati di cui oggi si dispone indicano che sono necessari ulteriori studi di correlazione tra i diversi metodi e, in particolare, tra questi e i dati clinici nei pazienti candidati all'uso degli antagonisti dei corecettori e in coloro che hanno sviluppato resistenza a questi farmaci.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. **Dorr P, Westby M, Dobbs S et al.** *Antimicrob Ag Chemother*, 2007, 49: 4721-32.
2. **Fatkenheuer GA, Pozniak MA, Johnson A, 49 et al.** *Nat Med*, 2005; 11:1170-72.
3. **Schürmann D, Fätkenheuer G, Reynes J, et al.** *AIDS*, 2007;2:1293-9.
4. **Crabb C.** GlaxoSmithKline ends aplaviroc trials. *AIDS*, 2006;20:641.
5. **Whitcomb JM, Huang W, Fransen S et al.** *Antimicrob Ag Chemother*, 2007, 51: 566-575.
6. <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/AdultandAdolescentGL.pdf>
7. **Hirsch MS, Günthard HF, Schapiro JM et al.** *Clin Infect Dis*, 2008;47:266-85
8. **Reeves J, Han D, Hunt P et al.** 3rd International Workshop Targeting HIV Entry, 2007.
9. **Westby M, Smith-Burchnell C, Mori J, et al.** *J Virol*, 2007, 81: 2359-2371.
10. **Jensen MA, van 't Wout AB.** *AIDS Rev* 2003, 5: 104-12.
11. **Low AJ, Dong W, Chan D et al.** *AIDS* 2007, 21: F17-F24.
12. **Brumme Z, Dong WWY, Yip B et al.** *AIDS* 2004, 18:F1-F9.

Sergio Lo Caputo
Unità Operativa Malattie
Infettive, Ospedale
Santa Maria Annunziata,
Firenze

Gli inibitori della fusione bloccano il processo di fusione tra virus e membrana cellulare, svolgendo un'azione protettiva nei confronti della cellula bersaglio

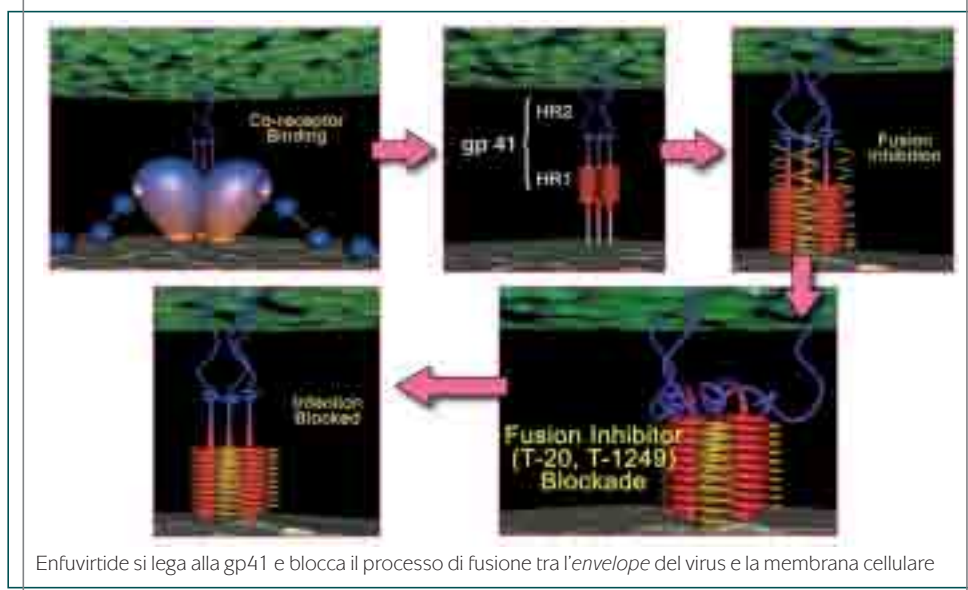
Gli inibitori della fusione

Nell'ambito delle nuove classi di farmaci antiretrovirali un grande interesse sembrano riscontrare gli inibitori dell'entry, che con meccanismi differenti impediscono al virus di entrare nella cellula permettendo di preservare le cellule bersaglio dell'HIV.

Gli inibitori della fusione bloccano il processo di fusione tra il virus e la membrana cellulare. Enfuvirtide (T-20) è stato il primo inibitore della fusione ad essere registrato. La molecola è un peptide sintetico composto da 36 aminoacidi, la cui sequenza, derivata dalla regione HR-2 della gp41 del virus HIV, agisce inibendo il processo in cui la gp 41 (divisa in due porzioni HR1 e HR2) si fonde con la membrana della cellula bersaglio. La **figura 1** mostra il meccanismo di azione di enfuvirtide.

Il meccanismo di azione di enfuvirtide svolge quindi un'azione protettiva nei confronti della cellula bersaglio impedendo la penetrazione del capsido virale. Questo meccanismo inibitorio è indipendente dal tropismo virale e quindi attivo in ogni fase dell'infezione; il farmaco risulta efficace anche su ceppi non-B nonostante l'elevata variabilità genetica presente nelle regioni HR-1 e HR-2 (1). Dati *in vitro* hanno anche evidenziato un effetto sinergico tra gli inibitori della fusione e gli inibitori del CCR5 (2). In corso di trattamento con enfuvirtide è stata inoltre evidenziata una importante immunomodulazione, caratterizzata da riduzione dei CD8+/38+/RO+ ed aumento di IL12 gag-specifica, anche in uno scenario "sfavorevole" quale quello dei pazienti plurifalliti (3). Le caratteristiche peculiari di enfuvirtide si ritrovano anche nella via di somministrazione: è in-

Figura 1 Meccanismo di azione degli inibitori della fusione



fatti il primo farmaco antiretrovirale somministrato per via sottocutanea; il dosaggio raccomandato è quello di 90 mg per 2 volte al giorno.

Questa modalità di somministrazione rappresenta l'ostacolo maggiore per una assunzione a lungo termine. Recentemente sono stati condotti studi che hanno valutato l'efficacia di una sola somministrazione giornaliera di enfuvirtide (180 mg) *versus* la dose standard tuttavia la numerosità esigua del campione non ha permesso di dimostrare con certezza la non inferiorità della mono-somministrazione rispetto alla somministrazione 2 volte al giorno (4).

Studi registrativi

Gli studi TORO1 e TORO 2 sono stati gli studi più importanti per la registrazione, in USA e in Europa, di questo farmaco nei pazienti pluritrattati (5,6).

I dati di questi studi, confermati anche nei successivi follow-up a 48 e 96 settimane, hanno evidenziato un successo virologico (HIV-RNA <400 copie/ml) significativamente più alto nel braccio con enfuvirtide rispetto al braccio di controllo (a 48 settimane 30,4% versus 12%). Inoltre un dato di grande interesse è stato quello del recupero immunologico, in pazienti in stadio avanzato di malattia; dopo 48 settimane il 31,3% dei pazienti aveva ottenuto un aumento di CD4+ >100/mm³ rispetto al basale contro il 10% del gruppo di controllo. Successive analisi statistiche di questi studi hanno identificato alcuni fattori presenti al basale che correlano con il successo virologico quali: un utilizzo di enfuvirtide con un maggior numero di farmaci antiretrovirali sensibili, un numero di CD4+ >100/mm³, un valore di HIV-RNA <100.000 copie/ml ed un utilizzo pregresso di meno di 10 antiretrovirali.

Enfuvirtide è un farmaco generalmente ben tollerato senza effetti sistemici e può essere somministrato anche a pazienti con ridotta funzionalità epatica e/o renale. L'unico evento avverso caratteristico di questo farmaco è rappresentato dalle reazioni nel sito di iniezione (ISR). Queste reazioni cutanee sono caratterizzate dalla comparsa di tumefazioni arrossate che possono essere dolenti e di variabile durata, documentate nella quasi totalità dei pazienti.

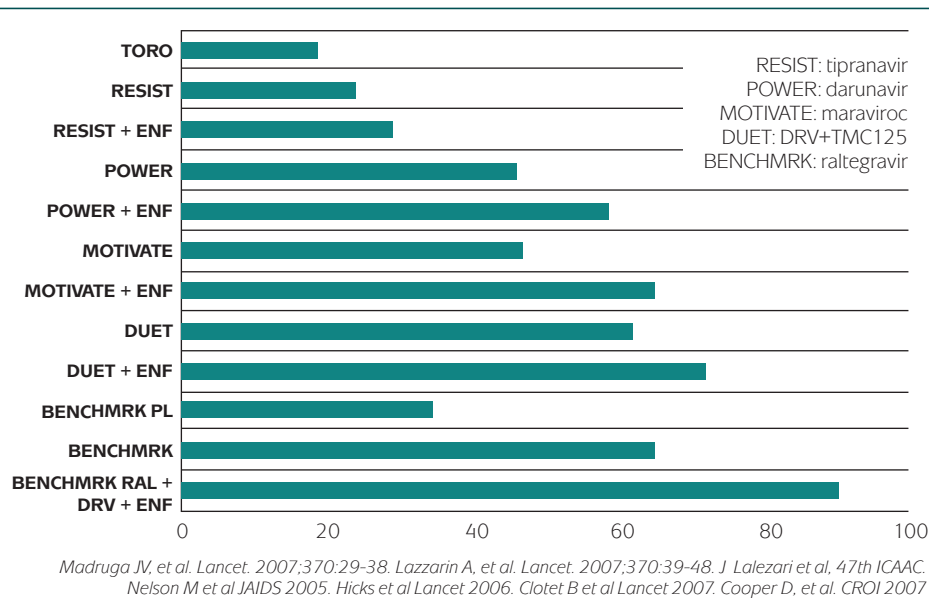
La comparsa di reazioni ISR è stata correlata alla accuratezza nella modalità di somministrazione del farmaco ed ad una rotazione dei siti di iniezione. Negli ultimi anni sono stati valutati metodi alternativi a quello dell'iniezione sottocutanea attraverso siringhe con aghi per ridurre la comparsa di ISR e quindi migliorare la tollerabilità a medio-lungo termine. Uno studio condotto con l'utilizzo del sistema Biojector, inoculazione del farmaco attraverso aria compressa, ha evidenziato una riduzione significativa della comparsa delle ISR nelle prime settimane di trattamento (7). La modalità di somministrazione del farmaco e la comparsa di ISR rappresentano l'ostacolo più grande per una assunzione a lungo termine e richiede un'alta motivazione da parte del paziente che deve essere preparato ed assistito dal personale sanitario.

I risultati degli studi TORO 1 e 2 hanno evidenziato l'importanza di utilizzare contemporaneamente farmaci attivi di classi diverse nel trattamento dei pazienti pluritrattati. Questa strategia, confermata da tutti gli studi registrativi con le nuove molecole, è stata recepita nelle linee guida per il trattamento antiretrovirale ed è alla base per un duraturo successo viro-immunologico. Nei *trial* clinici con i nuovi farmaci enfuvirtide è stato ampiamente utilizzato (con una media del 30-40%); le analisi stratificate hanno evidenziato una maggiore percentuale di successi virologici nei pazienti trattati con questo farmaco (8-10). Inoltre l'assenza di interazioni farmacologiche significative ne ha permesso l'utilizzo con tutte le classi di antiretrovirali. La **figura 2** mostra la percentuale di successi virologici ottenuti a 48 settimane nei *trial* registrativi dei nuovi anti-

I risultati degli studi TORO 1 e 2 hanno evidenziato l'importanza di utilizzare contemporaneamente farmaci attivi di classi diverse nel trattamento dei pazienti pluritrattati

Le caratteristiche peculiari sul fronte delle resistenze ad enfuvirtide, se confermate, potrebbero allargare le modalità di utilizzo di questo farmaco

Figura 2 Trial clinici su pazienti plurifalliti: soppressione virale (<50 copie/ml) a 48 settimane



retrovirali in pazienti plurifalliti stratificati per utilizzo di enfuvirtide. L'elevata percentuale di successo virologico ottenuta negli studi DUET e BENCHMRK anche in assenza di enfuvirtide è da correlare all'utilizzo contemporaneo di più farmaci attivi di classi diverse.

Resistenze

Anche per la classe degli inibitori della fusione si ha al fallimento la comparsa di mutazioni che conferiscono farmacoresistenza. Nel caso di enfuvirtide, la comparsa delle mutazioni avviene inizialmente nella regione HR-1 della gp41 ed interessa i codoni 36-45. Enfuvirtide è da considerare un farmaco a bassa barriera genetica, infatti al fallimento si osserva una rapida comparsa di mutazioni tra queste la più frequente sembra essere la V38A (11). L'interruzione di enfuvirtide in corso di fallimento provoca un limitato incremento della viremia ed una rapida scomparsa delle mutazioni entro le 16 settimane, questo dato indica che la presenza di mutazioni associate ad enfuvirtide sono correlate ad una minore *fitness* virale (12).

Recenti studi hanno dimostrato che alcuni pattern di mutazioni associati alla V38A (V38A+N140I, V38A+T18A) sono correlati ad un aumento di CD4+, pur in presenza di fallimento virale (13); tali mutazioni sarebbero in grado di ridurre l'effetto citopatico del virus e di potenziare la risposta immunitaria contro l'HIV. Tuttavia sono stati anche descritti pattern mutazionali (Q40H+L45M+T268A) che sono correlati con un calo dei linfociti CD4+. Queste caratteristiche peculiari sul fronte delle resistenze ad enfuvirtide necessitano di ulteriori conferme ma possono allargare le modalità di utilizzo di questo farmaco.

La disponibilità di nuove molecole appartenenti a nuove classi di antiretrovirali con assunzione per via orale ridurrà l'utilizzo di enfuvirtide nei pazienti plurifalliti; tuttavia in pazienti con limitate opzioni al fine di evitare monoterapie sequenziali l'impiego di questo farmaco è sicuramente raccomandato.

E' possibile attuare una strategia terapeutica di induzione-mantenimento con più farmaci includente enfuvirtide per una durata di 4-6 mesi con successiva sospensione in caso di successo virologico. Le caratteristiche peculiari delle resistenze possono inoltre prevedere un riutilizzo di enfuvirtide in associazione a nuove classi di farmaci. Inoltre, nei pazienti con ridotte opzioni terapeutiche e grave deficit immunologico, è possibile utilizzare l'effetto immunitario positivo in presenza della mutazione V38A. Enfuvirtide è stato anche utilizzato negli *advanced-naive* in un regime terapeutico iniziale a 4 farmaci permettendo un rapido recupero immunologico ed un abbattimento della viremia plasmatica. L'assenza di interazioni ed effetti collaterali sistemici ne permette un utilizzo anche in corso di terapie per infezioni opportuniste.

Nuovi inibitori della fusione

Attualmente non sono in corso studi clinici di fase II-III con nuovi inibitori della fusione tuttavia sono disponibili dati *in vitro* e di fase I. Trimeris, l'azienda che ha sviluppato enfuvirtide, ha condotto studi su altre due molecole TR-999 e TR1144 che hanno dimostrato *in vitro* una potente attività antivirale anche contro ceppi resistenti a T-20 ed un profilo farmacocinetico che potrebbe ipotizzare un utilizzo con un'unica dose settimanale (14).

Uno studio di fase I/II con Suc-HSA (*succinylated human serum albumin*), che ha caratteristiche di inibitore della fusione, non ha avuto esito positivo per l'inadeguato livello di farmaco nel plasma e per tossicità epatica.

L'impiego di enfuvirtide nei pazienti HIV+ advanced-naive in un regime terapeutico iniziale a 4 farmaci consente un rapido recupero immunologico e l'abbattimento della viremia

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. **Holguin A, Faudon JL, Labernardiere JI, Soriano V.** Susceptibility of HIV-1 non-B subtypes and recombinant variants to Enfuvirtide. *J Clin Virol* 2007;38:176-180.
2. **Imai M, Baranti L, Okada N, Okada H.** Inhibition of HIV-1 infection by synthetic peptides derived CCR5 fragments. *BBRC* 2007;353:851-856.
3. **Lo Caputo S, Clerici M, et al.** Submitted for publication
4. **Wright D, Rodriguez A, Godofsky E, et al.** Efficacy and safety of 48 weeks of enfuvirtide 180mg once-daily dosing versus 90mg twice daily dosing in HIV-infected patients *HIV Clin Trials* 2008 Mar-Apr;9:73-82.
5. **Lazzarin A, Clotet B, Cooper D, et al.** Efficacy of Enfuvirtide in patients infected with drug-resistant HIV infection in Europe and Australia. *N.Engl J. Med* 2003;348:2186-2195.
6. **Lalezari JP, Henry K, O'Hearn M, Montaner J, et al.** Enfuvirtide, an HIV-1 fusion inhibitor, for drug-resistant HIV infection in North and South America. *N. Engl J. Med* 2003;348:2175-85.
7. **Lalezari JP, Saag M, Walworth C, Larson P.** An open-label safety study of enfuvirtide injection with a needle-free injection device or needle/syringe: the Biojector 200 open-label safety study (BOSS). *AIDS Res Hum Retroviruses* 2008 Jun;24:805-13.
8. **Hicks CB, Cahn P, Cooper DA, et al.** Durable efficacy of tipranavir /ritonavir in combination with an optimized background regimen of antiretroviral drugs for treatment-experienced HIV-1 infected patients at 48 weeks in the Randomised Evaluation of Strategic Intervention in multi-drug resistant patients with Tipranavir (RESIST) studies: an analysis of combined data from two randomised open-label trials. *Lancet* 2006; 368: 466-75.
9. **Clotet B, Bellos N, Molina JM, Cooper D, Goffard JC, Lazzarin A, et al.** Efficacy and safety of Darunavir-Ritonavir at 48 week in treatment-experienced patients with HIV-1 infection in Power1 and 2: a pooled subgroup analysis of data from two randomised trials. *Lancet* 2007; 369:1169-78.
10. **Grinsztejn B, Nguyen B, Katlama C, Gatell JM, Lazzarin A, Vittecoq D, et al.** Safety and efficacy of the HIV-1 integrase inhibitor Raltegravir (MK-0518) in treatment-experienced patients with multidrug-resistant virus: a phase II randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 369: 1261-69.
11. **Lu J, Deeks SG, Beatty G, et al.** Rapid emergence of enfuvirtide resistance in HIV-1 infected patients Results of a clonal analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;43:60-64.
12. **Deeks SG, Lu J, Hoh R, et al.** Interruption of enfuvirtide in HIV-1 infected adults with incomplete viral suppression on an enfuvirtide-based regimen. *J Infect Dis* 2007;195:318-321.
13. **Aquaro S, D'Arrigo R, Svicher V, Di Perri G, Lo Caputo S, Visco-Comandini U, et al.** Specific mutations in HIV gp41 are associated with immunological success in HIV-1 infected patients receiving enfuvirtide treatment. *JAC* 2006;58.
14. **Delmedico M, Bray B, Cammak N, et al.** Next generation HIV peptide fusion inhibitor candidates achieve potent, durable suppression of virus replication in vitro and improved pharmacokinetic properties. *13 ° CROI 2006 abstract 48.*



Lucia Palmisano

Dipartimento
del Farmaco,
Istituto Superiore
di Sanità, Roma

La disponibilità di raltegravir e maraviroc, capostipiti di due nuove classi di farmaci, ha aumentato le possibilità terapeutiche per i pazienti multi-trattati e multi-resistenti

Gli inibitori dell'integrasi

La commercializzazione di raltegravir, insieme a quella di maraviroc, ha rappresentato un evento eccezionale nella storia dell'HAART: la disponibilità, praticamente simultanea, di due nuovi farmaci capostipiti di due nuove classi. Nell'immediato, ciò si traduce in un importante aumento delle possibilità terapeutiche per i pazienti multi-trattati e multi-resistenti.

Raltegravir ha una $IC_{95} = 33$ nM e alcune caratteristiche che lo differenziano da altri antiretrovirali; il suo metabolismo, infatti, non è mediato dal sistema dei citocromi P (CYP), ma avviene attraverso una reazione di coniugazione con l'acido glucuronico, che è catalizzata dalla UDP-glucuronosiltransferasi, UGT1A1. Conseguentemente, non è necessario il potenziamento farmacocinetico con *booster* di ritonavir, e ciò comporta una riduzione sia degli effetti indesiderati dovuti a ritonavir che delle potenziali interazioni farmacologiche. D'altra parte, la cosomministrazione di raltegravir con farmaci che sono forti induttori dell'UGT1A1, quali rifampicina, può produrre un aumento importante dei livelli ematici di raltegravir, per cui è sconsigliabile nella pratica clinica. Raltegravir viene somministrato due volte al giorno, alla dose di 400 mg. In realtà, negli studi di fase I-II non sono emerse grosse differenze di risposta viro-immunologica tra i vari dosaggi (da 200 a 600 mg), per cui non sono del tutto chiare le motivazioni che hanno supportato la scelta dei 400 mg per la fase III.

Gli studi con i quali è stata ottenuta l'approvazione di raltegravir sia in USA che in Europa sono i cosiddetti BENCHMRK 1 e 2, due *trial* randomizzati, in doppio cieco contro placebo + OBT (il miglior regime antiretrovirale disponibile), diversi solo per area geografica. Criterio di inclusione: resistenza a 3 classi di antiretrovirali e viremia >1000 copie di HIV RNA /ml. (1). A 48 settimane, il 64,4% dei soggetti trattati con raltegravir aveva viremia <50 copie/ml, rispetto al 34% del braccio di controllo, mentre l'aumento dei CD4 era di 98-120 cellule/mmc nel braccio raltegravir e 40-49 nel braccio di controllo. È importante sottolineare le percentuali molto elevate di risposta (quasi il 90%) osservate quando a raltegravir erano associati darunavir ed enfuvirtide (**Tabella 1**).

In questi casi anche il placebo, combinato con due farmaci attivi, appariva molto efficace (66% di soggetti con viremia <50 copie). Il risultato più sorprendente, però, è rappresentato dalla percentuale relativamente alta di soggetti (45%) che a 48 settimane aveva viremia <50 copie nonostante uno *score* genotipico pari a 0 al *baseline*, equivalente a nessun farmaco attivo da includere nella OBT. In questo gruppo di pazienti, come era attendibile, l'OBT ha prodotto risultati molto limitati (circa il 3% di risposte a 48 settimane). Due commenti importanti a questi dati: in primo luogo l'opportunità di "proteggere" e preservare a lungo l'efficacia di raltegravir combinandolo con farmaci potenti e attivi nel singolo individuo. Questo approccio permette in molti casi di raggiungere l'obiettivo delle 50 copie di viremia che, secondo le ultime linee guida, va perseguito in tutti gli stadi di malattia (3), evitando di "bruciare" la classe degli inibitori dell'integrasi. Il secondo commento riguarda l'efficacia e la durata nel tempo della risposta tra i soggetti con *score* genotipico = 0; que-

Tabella 1 Risposta virologica negli studi BENCHMRK in base agli altri antiretrovirali presenti nell'OBT

Farmaco nell'OBT		% di pazienti con VL <50 a 48 settimane	
Enfuvirtide	Darunavir	Raltegravir + OBT	Placebo + OBT
+	+	89	66
+	-	80	45
-	+	69	47
-	-	60	20

Dagli studi registrati emerge l'importanza di combinare raltegravir con farmaci potenti e attivi nel singolo individuo per preservarne l'efficacia a lungo termine

sto risultato conferma la potenza del farmaco *in vivo* e smentisce, almeno in parte, la teoria della bassa barriera genetica alla resistenza degli inibitori dell'integrasi.

L'elevata attività antiretrovirale osservata nella popolazione di pazienti HIV+ multi-trattati e multi-resistenti degli studi BENCHMRK è emersa anche dagli studi nei soggetti *naive*, nei quali raltegravir è stato confrontato con efavirenz, entrambi associati a tenofovir/3TC (4). Il dato più interessante di questo studio è rappresentato non tanto dalla risposta virologica a 48 settimane, superiore all'80% in entrambi i bracci di trattamento, quanto dal più rapido *decay* virale osservato nei soggetti trattati con raltegravir i quali, dal giorno 15 al giorno 57, hanno presentato livelli di HIV RNA significativamente inferiori a quelli del braccio trattato con efavirenz (5). Mentre il significato clinico di questi risultati non è noto, essi rivestono un interesse dal punto di vista patogenetico; infatti, se la seconda fase del *decay* virale viene influenzata da un inibitore dell'integrasi, ciò implica che il virus prodotto in questa fase non origina totalmente da cellule a lunga vita, con DNA integrato, sulle quali il blocco dell'integrasi non avrebbe effetti.

Il profilo di tossicità di raltegravir, almeno nel medio termine, appare buono, anche per quanto riguarda l'assenza di alterazioni metaboliche. Una nota di allarme era stata suscitata da un apparente aumento del rischio di tumori nella fase iniziale dei BENCHMRK. Un'analisi approfondita, inclusiva anche dei dati di *follow up*, ha fornito risultati rassicuranti in questo senso; prosegue tuttavia un attento monitoraggio dei pazienti.

Per quanto riguarda l'emergenza di resistenze agli inibitori dell'integrasi, si cominciano a delineare i percorsi attraverso i quali l'HIV sfugge all'effetto di questi farmaci; la maggioranza dei dati *in vivo* riguarda ovviamente raltegravir.

Allo stato attuale delle conoscenze, sono almeno due i profili genetici che si associano *in vivo* allo sviluppo di resistenza e fallimento virologico e coinvolgono varie mutazioni, associate alle due *key mutations* N155H e Q148H/R/K (6) (Tabella 2).



Si cominciano a delineare i percorsi attraverso cui HIV sfugge all'effetto degli inibitori dell'integrasi

Tabella 2 Principali profili genetici di resistenza a raltegravir

Mutazioni	Riduzione della sensibilità
Profilo 1: Q148 K/R/H + (G140S/A, E138K)	500 volte
Profilo 2: N155H + (E92Q, V151I, T97A, G163R, L74M)	10-70 volte

Dati recenti suggeriscono che quest'ultima sia la via preferita dal virus per la resistenza primaria, responsabile di una marcata perdita di sensibilità al farmaco ma di una scarsa compromissione della sua capacità replicativa (7).

Numerose evidenze suggeriscono che elvitegravir, inibitore dell'integrasi attualmente in fase di sviluppo (è annunciato per la fine del 2008 l'inizio della fase III) abbia un profilo di resistenza analogo a quello di raltegravir, per cui il sequenziamento di queste due molecole al momento sembra improponibile: un motivo ulteriore per utilizzare raltegravir solo nell'ambito di un regime potente, evitando qualsiasi monoterapia "virtuale".

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. **Cooper D, Gatell J, Rockstroh J, et al.** 48-Week Results from BENCHMRK-1, a Phase III Study of Raltegravir in Patients Failing ART with Triple-class Resistant HIV-1. *15th Conference on retroviruses and opportunistic infections, Boston, 2008, Abstr 788.*
2. **Steigbigel R, Kumar P, Eron J, et al.** 48-Week Results from BENCHMRK-2, a Phase III Study of Raltegravir in Patients Failing ART with Triple-class Resistant HIV-1. *15th Conference on retroviruses and opportunistic infections, Boston, 2008, Abstr 789.*
3. **Panel on Antiretroviral guidelines for adults and adolescents.** Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1 infected adults and adolescents. Department of Health and Human Services. *January 29, 2008; 1-128.*
4. **Markowitz M, Nguyen BY, Gotuzzo E, et al.** Rapid and durable antiretroviral effect of the HIV-1 Integrase inhibitor raltegravir as part of combination therapy in treatment-naive patients with HIV-1 infection: results of a 48-week controlled study. *J Acquir Immune Defic Syndr. 2007; 46:125-33.*
5. **Murray JM, Emery S, Kelleher AD.** Antiretroviral therapy with the integrase inhibitor raltegravir alters decay kinetics of HIV, significantly reducing the second phase. *AIDS. 2007 12;21:2315-21.*
6. **Johnson VA, Brun-Vézinet F, Clotet B, et al.** Update of the Drug resistance mutations in HIV-1: spring 2008. *Top HIV Med 2008; 16:62-68.*
7. **Fransen S, Gupta S, Danovich R, et al.** Loss of raltegravir susceptibility in treated patients is conferred by multiple non-overlapping genetic pathways. *XVII International HIV Drug resistance Workshop. June 10-14, 2008, Sitges, Spain, Abstr 7.*

Nuovi inibitori della proteasi e loro profili di resistenza

Andrea De Luca,
Angela Marzocchetti
*Istituto di Clinica
delle Malattie Infettive,
Università Cattolica del Sacro
Cuore, Roma*

Tra il 2006 ed il 2007, sono stati approvati due nuovi inibitori delle proteasi, tipranavir (TPV) e darunavir (DRV), da impiegare in pazienti con precedenti fallimenti terapeutici ad altri inibitori delle proteasi.

Tipranavir (TPV)

Tipranavir è un inibitore non peptidico che si lega strettamente alla proteasi di HIV attraverso legami idrogeno. Studi *in vitro* hanno dimostrato che in presenza di TPV la selezione di HIV con fenotipo resistente al farmaco è lenta, le prime mutazioni ad essere selezionate sono la L33F la I84V nella proteasi virale: altre 10 mutazioni nella proteasi e in un sito di clivaggio di gag, selezionate *in vitro*, contribuiscono alla resistenza al TPV. Virus resistenti a tipranavir mostrano resistenza crociata con altri inibitori delle proteasi (PI) attualmente in uso, ad eccezione di saquinavir.

L'uso del TPV è stato analizzato estesamente in pazienti che avevano fallito regimi multipli di PI. Negli studi di fase III RESIST, sono stati arruolati 1500 pazienti multiresistenti. Essi dovevano essere stati trattati con tre classi di farmaci e almeno due PI, presentare almeno una mutazione di resistenza maggiore ai PI, ma non più di due mutazioni ai codoni 33,82,84 e 90. TPV/ritonavir (RTV) 500/200 mg due volte al giorno con un *backbone* di terapia ottimizzato (OBT) mostrava una migliore risposta virologica a 96 settimane rispetto al PI di confronto. La correlazione tra le mutazioni genotipiche di resistenza al basale e la suscettibilità fenotipica, nonché con la risposta virologica a 2-24 settimane in quasi 300 pazienti arruolati nel braccio con TPV nei *trial* di fase 2, è stata utilizzata per derivare uno *score* di mutazioni che consiste in 21 sostituzioni aminoacidiche in 16 siti della proteasi: molte di queste mutazioni non sono state associate a resistenza ad altri PI, mentre alcune mutazioni maggiori associate a resistenza ad altri PI non contribuivano allo *score* di mutazioni del TPV. Inoltre le mutazioni D30N, I50V e N88D si associavano ad incrementata sensibilità a TPV. Successivamente studi di associazione *in vivo* ed *in vitro* hanno mostrato come anche L76V, mutazione selezionata da lopinavir possa conferire aumentata suscettibilità del virus a TPV. Tale *score* è stato sottoposto a cross-validazione su circa 560 pazienti dai bracci di TPV dei *trial* RESIST. Lo *score* del TPV mostrava una più accurata predizione della risposta virologica a 24 settimane rispetto al numero di mutazioni di resistenza della proteasi precedentemente incluse nella lista IAS.

La suscettibilità fenotipica è stata testata utilizzando il test Antivirogram (Virco) su un sottoinsieme di 360 isolati da pazienti trattati con TPV arruolati nel *trial* RESIST. Pazienti con isolati con un *fold-change* della IC50 inferiore a 3 mostravano una risposta virologica ottimale a 24 settimane, sopra questa soglia la risposta virologica era ridotta e diveniva assente con un *fold-change* maggiore di 10. La correlazione tra la suscettibilità

Tipranavir e darunavir sono i due nuovi inibitori della proteasi, il cui impiego è indicato nei pazienti con precedenti fallimenti terapeutici ad altri PI



L'uso clinico ottimale di tipranavir è in pazienti precedentemente trattati con PI, in combinazione con almeno un farmaco completamente attivo

in vitro e la risposta virologica a 4 settimane è stata analizzata anche usando il test Phenosense™ (Monogram Biosciences).

L'attività di TPV su molti ceppi di HIV-1 resistenti ai PI lo rende un buon candidato per pazienti che hanno fallito PI in precedenza. La sua efficacia è particolarmente evidente e sostenuta in presenza di un regime di *background* attivo. Come dimostrato nel caso dell'associazione con enfuvirtide nei pazienti mai precedentemente esposti a tale farmaco, la somministrazione concomitante di un farmaco di una nuova classe aumenta significativamente l'efficacia antivirale di TPV. Quindi, l'uso clinico ottimale di TPV è in pazienti precedentemente trattati con PI in combinazione con almeno un farmaco completamente attivo. Nonostante la sua barriera genetica elevata, TPV non verrà impiegato in regimi di prima linea a causa della maggiore tossicità in rapporto a quella di PI che attualmente rappresentano lo standard di trattamento in tale tipologia di paziente.

Darunavir (DRV)

DRV (già TMC114) è strutturalmente simile ad amprenavir ma lega la proteasi di HIV più strettamente e protrude ulteriormente dal substrato, permettendo al farmaco di formare 3 legami idrogeno aggiuntivi. I residui della proteasi di HIV a contatto con DRV nei siti dove protrude dall'*envelope* del substrato sono siti potenziali per mutazioni di resistenza ai farmaci. Nonostante DRV sia in contatto con residui della proteasi comunemente mutati, finora mutazioni in questi siti non sono state selezionate *in vitro*, contrariamente a quanto avviene se il *wild-type* è esposto a dosi crescenti di amprenavir, quando si verificano mutazioni nel sito attivo in posizione I47, I50 e I84. In esperimenti *in vitro*, sono state selezionate solo 2 mutazioni della proteasi virale, entrambe lontane dal sito attivo, che se introdotte in un ceppo di laboratorio non producono modifiche nella suscettibilità a DRV o ad altri PI (19). Ciò suggerisce che regioni diverse dalla proteasi, forse nei siti di clivaggio di *gag*, possono giocare un ruolo nel determinare la suscettibilità al DRV.

DRV è molto attivo sia nei confronti di ceppi di HIV *wild-type* che con resistenze ai PI. L'EC50 del farmaco sia nei confronti di HIV-1 che di HIV-2 è nel basso *range* nanomolare e si paragona con l'EC50 osservato solitamente per il PI più attivo finora disponibile, saquinavir. DRV mostra una potente attività contro una gamma di virus ricombinanti: HIV-1 gruppo M, sottotipi A - H, e gruppo O. Il farmaco ha dimostrato, inoltre, di avere una buona attività contro il 75% di isolati clinici con mutazioni multiple della proteasi che esibivano resistenza a una media di altri cinque PI.

Gli studi di fase IIB POWER 1 e 2 hanno arruolato tre classi di pazienti *experienced* con almeno una mutazione di resistenza maggiore all'inibitore di proteasi e HIV RNA al basale > 1000 copie/ml; i pazienti sono stati randomizzati per ricevere un OBT con DRV e RTV o un PI boosterato. A 24 settimane, il dosaggio DRV/RTV 600/100 mg due volte al giorno è stato scelto come dose ottimale. Il braccio di studio del DRV mostrava una risposta virologica notevolmente migliore, con il 46% dei pazienti con HIV-1 RNA < 50 copie/ml a 48 settimane.

Uno *score* di mutazioni di resistenza è stato derivato e convalidato da analisi di un gruppo di pazienti (n= 458) assegnati a DRV/RTV negli studi POWER 1,2 e 3, quest'ultimo è uno studio non randomizzato che impiega criteri di selezione simili agli studi precedenti. Sono state identificate 11 mutazioni in 10 posizioni selezionate utilizzando una serie di criteri: la

prevalenza delle mutazioni, la corrispondente suscettibilità fenotipica nello stesso set e nel più grande database di Virco, la suscettibilità dei mutanti prodotti *in vitro* e la loro correlazione con la risposta virologica a 24 settimane negli studi POWER. La presenza di tre o più mutazioni dal set di 11 è stata associata con risposta virologica significativamente diminuita a 24 settimane: le percentuali di pazienti con HIV-1 RNA <50 copie/ml erano rispettivamente 62, 50, 42, 22 e 10% con zero, uno, due, tre e quattro o più mutazioni dal DRV. Questo punteggio era più esatto nel predire le risposte virologiche rispetto al numero di mutazioni della proteasi incluse nella versione 2004 della IAS. Inoltre, lo stesso gruppo di dati è stato impiegato per derivare un *cut-off* di resistenza fenotipica clinicamente rilevante con il test Antivirogram. Le proporzioni con RNA HIV-1 < 50 copie/ml erano 50, 25 e 13% rispettivamente con *fold-change* nella IC50 ≤ 10 , $>10-40$ e ≥ 40 . In un'analisi separata usando i dati degli studi POWER, sono stati impiegati 319 regimi di pazienti trattati con darunavir per derivare e 83 regimi per convalidare due *cut-off* clinici che corrispondono ai *fold-change* nella IC50 predetti dal DRV utilizzando il sistema virco-TYPE (il nuovo fenotipo virtuale) associati con 20% (*cut-off* inferiore) e 80% (*cut-off* superiore) di perdita della risposta osservata in individui con ceppi *wild-type*. I *cut-off* inferiore e superiore erano stabiliti rispettivamente a 3.4 e 96.9 *fold-change*. Le potenziali limitazioni dello *score* genotipico e del *cut-off* clinico sono che lo stesso insieme dei pazienti è stato utilizzato per derivare e convalidare entrambe. Di conseguenza, vi è ancora necessità di analizzare la loro capacità di predire gli outcome virologici con DRV in circostanze in cui la prevalenza di mutazioni e i profili di resistenza e quindi il peso di specifici pattern di mutazioni possono differire.

Come nel caso di TPV, l'efficacia di DRV nei pazienti che avevano fallito tre classi di farmaci è aumentata dalla concomitante attività del *backbone* di farmaci. In particolare, la proporzione di pazienti con HIV-RNA <50 copie/ml era 46% a 48 settimane nell'intero gruppo di pazienti trattati con DRV ma nel sottogruppo degli individui che simultaneamente ricevevano per la prima volta enfuvirtide, questa proporzione aumentava a 58%. Di conseguenza, l'uso ottimale di DRV in un regime di salvataggio è in combinazione con almeno un agente antiretrovirale completamente attivo. L'alta barriera genetica di DRV lo rende un candidato potenziale per l'uso di PI in individui *naive*. *Trial* clinici sono in corso con il dosaggio once daily nei pazienti *naive*, inoltre sono presenti due studi comparativi di fase III che paragonano DRV/RTV con lopinavir/RTV nel trattamento dei *naive* (ARTEMIS) ed in pazienti moderatamente trattati (TITAN). In entrambi gli studi a 96 settimane DRV/RTV in singola somministrazione quotidiana (Artemis) ed al dosaggio standard (Titan) ha mostrato superiorità virologica nei confronti di lopinavir/r.

L'indicazione data per tipranavir è valida anche per darunavir, anche se la sua elevata barriera genetica lo rende un potenziale candidato nei pazienti naive



Stefano Rusconi

Dipartimento di Scienze
Cliniche "Luigi Sacco",
Sezione di Malattie
Infettive e Immunopatologia,
Università degli
Studi di Milano

La necessità di sostituire nevirapina ed efavirenz, NNRTI di prima generazione all'interno dei regimi HAART spiega il bisogno di disporre di nuovi farmaci di questa classe

I nuovi inibitori non-nucleosidici della trascrittasi inversa (NNRTI)

Nel nostro armamentario terapeutico c'è l'assoluto bisogno di nuovi inibitori non-nucleosidici della trascrittasi inversa (NNRTI). All'interno dei regimi HAART, in molti casi, esiste la necessità di sostituire gli NNRTI di 1^a generazione quali nevirapina (NVP) ed efavirenz (EFV).

Le ragioni principali per l'impiego di nuovi composti all'interno di questa classe sono la tollerabilità e la sicurezza per garantire un miglior profilo per eventi avversi a carico del SNC e soprattutto una minore incidenza di reazioni di ipersuscettibilità (HSR). Altro elemento importantissimo è il superamento dell'assoluta resistenza crociata tra i due NNRTI di 1^a generazione. Inoltre, consideriamo che tra i pazienti naive si verifica la trasmissione della resistenza a NNRTI in circa il 10% dei casi e che non è attualmente possibile nella comune pratica clinica il rilevamento delle varianti minoritarie con una resistenza a NNRTI.

I farmaci della prossima generazione di NNRTI:

- Etravirina (TMC125)
- Rilpivirina (TMC278)
- UK-453,061
- BILR 355 BS
- IDX899
- RO-5028 (pro-farmaco R7180)

Etravirina (TMC125)

TMC125 è attivo *in vitro* nei confronti di HIV-1 *wild-type* con EC50 = 1.4 nM. Il composto mostra una riduzione < 5 volte (FC) della sensibilità fenotipica in presenza delle seguenti mutazioni: K103N, Y181C, Y188L e L100I.

I *trial* di fase I hanno evidenziato l'emivita di eliminazione di 30-40 ore, lo stato di equilibrio ottenuto dopo 5 giorni e il metabolismo da parte del citocromo P450 CYP3A. I *trial* di fase IIb (*proof-of-principle*) hanno evidenziato il declino di HIV-RNA dopo 7 giorni di terapia. Nel *trial* erano stati arruolati 16 soggetti HIV-1-positivi con evidenza di resistenza a NNRTI: TMC125 era somministrato al dosaggio di 900 mg BID + NRTI in corso. Il delta dell'HIV-RNA era -0.86 log₁₀ (1).

Nel *trial* di fase II TMC125-C227 (in pazienti con un fallimento della prima linea terapeutica basata su NNRTI) la presenza della pregressa resistenza a NRTI (includendo M184V e TAMs) e a NNRTI ha influenzato profondamente i dati, indicando che l'iniziale riduzione di 1.3 log₁₀ nel valore di HIV-RNA non è stata mantenuta probabilmente a causa di una limitata attività dei farmaci nel regime ottimizzato di background (OBR) (2).

Lo studio TMC125-C223 è stato effettuato su un numero più esteso di soggetti in fallimento virologico, con resistenza a NNRTI e ≥3 mutazioni per i PI. Il gruppo di controllo era confrontato con altri 2 gruppi di pazienti trattati con TMC125, uno con 400 mg BID e l'altro con

800 mg BID, secondo una randomizzazione 1:2:2. Alla 24^a settimana di trattamento le riduzioni di HIV-RNA erano -0.19 log₁₀ nei controlli, -1.04 nel gruppo 400 mg BID ($p < 0.05$) e -1.18 nel gruppo 800 mg BID ($p < 0.05$) (3). All'interno del *trial* l'impatto di ARV sensibili (0, 1 o >1) aveva influenzato profondamente la risposta virologica, con il massimo beneficio se > 1 farmaci sensibili erano presenti nell'OBR (4).

Ma le evidenze più importanti, che hanno portato all'approvazione di questo farmaco da parte dell'FDA, sono venute dai due *trial* registrativi DUET 1 e 2 (5, 6). In questi studi di fase III, TMC125 200 mg BID versus placebo era somministrato con darunavir (DRV)/r (600 mg/100 mg BID) + OBR (≥ 2 NRTI \pm T-20). I soggetti con HIV-RNA < 50 cp/mL alla settimana 48 è risultata 61% nel braccio TMC125 versus 40% nel braccio placebo ($p < 0.001$) (7, 8). La risposta virologica (HIV-RNA < 50 cp/mL) stratificata per il *phenotypic sensitivity score* (PSS) di DRV mostrava percentuali differenti stratificando i dati per DRV FC < 10 (sensibilità piena) o < 40 FC (sensibilità intermedia) ed il numero di farmaci attivi nell'OBR (**Tabella 1**) (7, 8).

Gli eventi avversi, sempre emersi dagli studi DUET (che hanno arruolato 599 soggetti nei bracci con TMC125), sono stati complessivamente 96: gli eventi avversi di grado 3-4: 33, le sospensioni della terapia dovute agli eventi avversi: 7, gli eventi avversi gravi: 20 e le morti per ogni causa: 2. I più comuni eventi avversi sono stati: rash (19), diarrea (18), nausea (15) e cefalea (11). Non sono state osservate anomalie consistenti nei parametri di laboratorio (compresi gli indici di necrosi epatica ed i lipidi) o vitali e all'ECG.

La resistenza a TMC125, negli studi DUET 1 e 2, è stata definita secondo una lista di 13 mutazioni genotipiche presenti al *baseline*: V90I, A98G, L100I, K101E/P, V106I, V179D/F, Y181C/I/V e G190A/S. La presenza di ≥ 3 mutazioni per TMC125 comportava una risposta virologica al farmaco attivo simile a quella al placebo. Il 70% dei pazienti ha presentato 0-1 mutazioni al basale, mentre solo il 14% aveva ≥ 3 mutazioni per TMC125 (9). Dati recenti dal database ARCA hanno mostrato che la mutazione Y181C è associata a 2 o più mutazioni in una percentuale più alta rispetto agli studi DUET (27% versus 15%), tuttavia l'associazione delle mutazioni V179F e G190S era presente solo nel 5% delle sequenze. I dati hanno mostrato che TMC125 può rappresentare una buona opzione per i pazienti con precedente fallimento a NNRTI, sebbene i soggetti che hanno fallito regimi contenenti EFV potrebbero mostrare una risposta maggiore a TMC125 rispetto a coloro che hanno fallito a NVP (10).

L'analisi *on-treatment* dello studio FIRST ha indicato che il fallimento terapeutico con EFV determina l'insorgenza di un numero più ridotto di mutazioni che compromettono l'uso di TMC125 rispetto al fallimento con NVP. Il profilo mutazionale suggerisce che la soppres-

Gli studi DUET 1 e 2 hanno documentato l'efficacia di etravirina e ne hanno evidenziato un migliore profilo di tollerabilità rispetto agli NNRTI di 1^a generazione

Tabella 1 Risposta virologica (HIV-RNA < 50 copie/mL) negli studi DUET 1 e 2 alla settimana 48, stratificata per lo score fenotipico

	DRV <10 FC		DRV <40 FC	
	TMC125	placebo	TMC125	placebo
0*	46%	6%	33%	0%
1*	63%	32%	60%	26%
≥ 2 *	78%	67%	82%	61%

(* PSS: 0, 1 o ≥ 2 farmaci attivi nell'OBR) e la sensibilità piena (FC < 10) o intermedia (< 40 FC) per DRV



Rilpivirina ha dimostrato un'efficacia e un profilo di tollerabilità sovrapponibile ad efavirenz

sione virologica in seguito al trattamento con regimi terapeutici contenenti TMC125 si verificano preferenzialmente se la terapia iniziale contiene EFV piuttosto che NVP (11). L'interpretazione della resistenza a TMC125, derivata dagli studi DUET 1 e 2, è stata eseguita da Tibotec e Monogram. Se da un lato il *lower clinical cut-off* (LCCO) è stato definito con buona sicurezza sia da Tibotec (12) sia da Monogram (rispettivamente FC 3 e FC 2.9) (13), i successivi livelli di sensibilità intermedia e resistenza sono ancora incerti. È stato proposto un CCO intermedio di 13, che corrisponde alla riduzione media HIV-RNA di $-1.79 \log_{10}$ (14). Considerando la sensibilità fenotipica come un *continuum*, è difficile stimare quale importanza dare ad un valore che definisce un *cut-off* intermedio. Ricercatori Tibotec hanno definito tre livelli di *score* ponderato: 0-2 (risposta elevata), 2.5-3.4 (risposta intermedia) e ≥ 4 (risposta ridotta), definito in base ai valori di TMC125 FC al baseline (12). Anche il gruppo Monogram, impiegando un punteggio ridefinito da 1 a 4, è stato in grado di ridurre la frequenza della ridotta sensibilità inaspettata solo al 3.5% (15).

Caratteristiche fondamentali di TMC125:

- il dosaggio raccomandato è 200 mg BID a stomaco pieno;
- viene metabolizzato tramite CYP3A4, CYP2C9 CYP2C19;
- il rash è l'evento avverso principale di grado 2-4 nel 9%, causa d'interruzione nel 2% e sindrome di Steven-Johnson in meno dell'1%;
- al fallimento virologico le mutazioni maggiormente selezionate sono Y181C/I e V179F/I;
- il *fold-change* per il mantenimento della suscettibilità fenotipica è < 3 secondo i dati di Tibotec e < 2.9 secondo i dati di Monogram;
- indicazioni speciali: categoria B per il rischio teratogeno; non è necessario l'aggiustamento del dosaggio nell'insufficienza renale ed è indicata la somministrazione nell'insufficienza epatica lieve-moderata (Child-Pugh A e B);
- somministrazione controindicata con: tipranavir/r, atazanavir/r, fosamprenavir/r, PI senza ritonavir (atazanavir, fosamprenavir, indinavir, nelfinavir), delavirdina, nevirapina ed efavirenz.

Rilpivirina

Caratteristiche *in vitro*: EC50 di HIV-1 *wild-type* 0.5 nM, riduzione < 5 volte (FC) della sensibilità fenotipica in presenza delle seguenti mutazioni: K103N, Y181C, Y188L e L100I. I *trial* di fase I hanno indicato un'emivita di 38 ore e pertanto la possibilità di una monosomministrazione giornaliera. Le sperimentazioni di fase II hanno portato ad un declino dell'HIV-RNA di 1.2 \log_{10} durante 7 giorni di monoterapia funzionale con una differenza intangibile tra i vari dosaggi (25, 50, 100 e 150 mg) (16).

Lo studio TMC278-C204 ha paragonato TMC278 (3 diversi dosaggi: 25, 75, 150 mg OD) a EFV in pazienti *naïve* per un totale di 96 settimane. L'analisi primaria è stata condotta dopo 48 settimane di trattamento. La percentuale di pazienti con risposta virologica (HIV-RNA < 50 cp/mL) non è stata differente nei 3 bracci trattati con TMC278 (81% - 80% - 77%) e il braccio che aveva ricevuto EFV (81); l'incremento dei CD4/ μL è stato importante sia nei 3 bracci attivi (125/ μL - 148/ μL - 143/ μL) sia nel braccio EFV (127) (17). Gli effetti collaterali, sia a carico del SNC che nausea, vomito e rash, sono stati sovrapponibili a EFV. Le variazioni dei lipidi (colesterolo totale, HDL, LDL e trigliceridi) rispetto al *baseline* sono state sempre più favorevoli rispetto a quelle del braccio EFV (18).

Altri 4 composti appartenenti a questa classe sono negli stadi iniziali di sviluppo.

UK-453,061

Caratteristiche *in vitro*: IC₉₀ 118 nM per HIV-1 *wild-type* e 215 nM per gli isolati virali che presentano la mutazione K103N nell'RT. I *trial* di fase I hanno indicato un'emivita di 7-11 ore; il metabolismo avviene attraverso CYP3A e i processi di glucuronidazione (19). Un *trial* di fase II ha considerato diversi dosaggi (da 10 mg BID a 750 mg BID) per un periodo di 7 giorni. È emerso un distinto profilo antivirale dose-risposta, fino a una massima riduzione di HIV-RNA di circa 2 log₁₀, che si protraeva, per le dosi più elevate, fino a 2-3 giorni dopo il termine della somministrazione del farmaco (20).

BILR 355 BS

Questo composto è classificato come un dipiridodiazepinone. Possiede le seguenti caratteristiche *in vitro*: EC₉₀ 6nM contro HIV-1 *wild-type*; riduzione < 10 volte (FC) della sensibilità fenotipica nella maggioranza degli isolati virali in presenza di almeno 1 mutazione per la classe degli NNRTI.

I *trial* di fase I hanno indicato un'emivita di 16-17 ore e la necessità di una baby-dose di RTV (21). Sono in corso gli studi di fase IIa.

IDX899

L'efficacia di IDX899 è stata descritta in uno studio di monoterapia (dosaggi 200, 400 o 800 mg die) della durata di 7 giorni. La riduzione media di HIV-RNA è stata di 1.78-1.83 log₁₀ e la conta CD4 ha presentato un incremento di circa 60 cellule/ μ L. Non è stata evidenziata una netta relazione pK/pD, probabilmente a causa dei livelli di farmaco ben al di sopra dell'EC₉₀ degli isolati *wild-type*. Per questo motivo il protocollo è stato emendato ed è stato aggiunto il dosaggio di 100 mg die (22).

Esperimenti *in vitro* hanno evidenziato due distinti *pathway* per lo sviluppo di resistenza a IDX899 (E138K o V90I/Y181C); mutazioni aggiuntive, quali M230L, sono necessarie per il raggiungimento di un alto livello di resistenza. Etravirina e rilpivirina non hanno mostrato alcuna attività nei confronti degli isolati resistenti a IDX899. Il farmaco è risultato più attivo di TMC125 ed equivalente a TMC278 in un *pool* di virus resistenti a NNRTI (23).

RO-5028 (pro-farmaco R7180)

RO-5028 è efficace *in vitro* nell'inibire la replicazione di isolati *wild-type* di HIV-1 e possiede una IC₅₀ inferiore a 100 nM per isolati virali resistenti a NNRTI. La resistenza *in vitro* di RO-5028 (HXB2 in cellule MT-4), ha evidenziato due distinti *pathway*: V106A + F227L o V106I + Y188L che differiscono da quanto accade per efavirenz e TMC125.

Queste mutazioni sono meno prevalenti rispetto alle classiche mutazioni correlate a NNRTI. Lo sviluppo di resistenza al farmaco richiede multiple mutazioni, con l'eccezione di Y188L che da sola conferisce una resistenza fenotipica elevata (IC₅₀ 338 nM, aumento 260 FC) (24). Il pro-farmaco di RO-5028, R7180, ha dimostrato di raggiungere elevati livelli ematici nell'animale, con un favorevole profilo di tossicità negli studi preclinici condotti fino a 4 settimane (25).

Le indicazioni provenienti dalle varie linee guida indicano l'impiego degli NNRTI come parte fondamentale della terapia antivirale sia nelle fasi precoci che avanzate dell'infezione da HIV. I nuovi NNRTI sembrano possedere una potenza e una tollerabilità più favorevole rispetto agli NNRTI di prima generazione. Sia etravirina che rilpivirina, come altri inibitori in fase precoce di sviluppo, possiedono un'elevata barriera genetica allo sviluppo di resistenza e pertanto saranno ancora più utili nella pratica clinica.

Sia etravirina che rilpivirina possiedono un'elevata barriera genetica allo sviluppo di resistenza e pertanto saranno ancora più utili nella pratica clinica

Altri quattro composti appartenenti alla classe degli NNRTI sono negli stadi iniziali di sviluppo

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. **Gazzard BG, Pozniak AL, Rosenbaum W, et al.** An open-label assessment of TMC 125 – a new, next-generation NNRTI, for 7 days in HIV-1 infected individuals with NNRTI resistance. *AIDS* 2003;17:F49-F54.
2. **Woodfall B, Vingerhoets J, Peeters M, et al.** Impact of NNRTI and NRTI resistance to the regimen of TMC125 plus 2 NRTIs in study TMC125-C227. *8th International Congress on Drug Therapy in HIV Infection, Glasgow, UK, 12-16 November 2006. Abstract PL5.6.*
3. **TMC125-C223 Writing Group; Nadler JP, Berger DS, Blick G, et al.** Efficacy and safety of etravirine (TMC125) in patients with highly resistant HIV-1: primary 24-week analysis. *AIDS*. 2007;21:F1-F10.
4. **Nadler J, Grossman HA, Hicks C, et al.** Efficacy and tolerability of TMC125 in HIV patients with NNRTI and PI resistance at 24 weeks: TMC125-C223. *10th European AIDS Conference, Dublin, Ireland, 17-20 October 2005. Abstr LBPS3/7A.*
5. **Madruga JV, Cahn P, Grinsztejn B, et al.** Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment-experienced HIV-1-infected patients in DUET-1: 24-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2007;370:29-38.
6. **Lazzarin A, Campbell T, Clotet B, et al.** Efficacy and safety of TMC125 (etravirine) in treatment-experienced HIV-1-infected patients in DUET-2: 24-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2007;370:39-48.
7. **Haubrich R, Cahn P, Grinsztejn B, et al.** DUET-1: week-48 results of a phase III randomized double-blind trial to evaluate the efficacy and safety of TMC125 vs placebo in 612 treatment-experienced HIV-1-infected patients. *15th CROI, Boston, MA, 3-6 February 2008. Abstract 790.*
8. **Johnson M, Campbell T, Clotet B, et al.** DUET-2: week-48 results of a phase III randomized double-blind trial to evaluate the efficacy and safety of TMC125 vs placebo in 591 treatment-experienced HIV-1-infected patients. *15th CROI, Boston, MA, 3-6 February 2008. Abstract 791.*
9. **Cahn P, Haubrich R, Leider J, et al.** Pooled 24-week results of DUET-1 and -2: TMC125 (etravirine; ETR) vs. placebo in 1203 treatment-experienced HIV-1-infected patients. *47th ICAAC, Chicago, IL, September 17-20 2007, abstr H-717.*
10. **Di Vincenzo P, Rusconi S, Adorni F, et al.** Prevalence of mutations and determinants of genotypic resistance to etravirine (TMC125) in a large Italian resistance database (ARCA). *6th European HIV Drug Resistance Workshop, Budapest, Hungary, 26-28 March 2008. Abstract 59.*
11. **MacArthur RD, Huppler Hullsiek K, Peng G, et al.** Failing therapy with efavirenz results in significantly fewer mutations limiting to etravirine than failing therapy with nevirapine: on-treatment analyses from the CPCRA FIRST study. *Antiviral Therapy* 2008; 13 Suppl 3:A141.
12. **Vingerhoets J, Peters M, Azijn H, et al.** An update of the list of NNRTI mutations associated with decreased virological response to etravirine: multivariate analyses on the pooled DUET-1 and DUET-2 clinical trial data. *Antiviral Therapy* 2008; 13 Suppl 3:A26.
13. **Coakley E, Chappey C, Benhamida J, et al.** Biological and clinical cut-off analyses for etravirine in the PhenoSense™ HIV assay. *Antiviral Therapy* 2008; 13 Suppl 3:A134.
14. **Peeters M, Nijs S, Vingerhoets J, et al.** Determination of phenotypic clinical cut-offs for etravirine: pooled week 24 results of the DUET-1 and DUET-2 trials. *Antiviral Therapy* 2008; 13 Suppl 3:A133.
15. **Benhamida J, Chappey C, Coakley E, Parkin NT.** HIV-1 genotype algorithms for prediction of etravirine susceptibility: novel mutations and weighting factors identified through correlations to phenotype. *Antiviral Therapy* 2008; 13 Suppl 3:A142.
16. **de Bethune M-P, Andries K, Azijn H, et al.** TMC278, a new potent NNRTI, with an increased barrier to resistance and good pharmacokinetic profile. *12th CROI, Boston, MA, February 22-25 2005. Abstract 556.*
17. **Pozniak A, Morales-Ramirez J, Mohapi L, et al.** 48-week primary analysis of trial TMC278-C204: TMC278 demonstrates potent and sustained efficacy in ARV naive patients. *14th CROI, Los Angeles, CA, February 25-28 2007. Abstr 144LB.*
18. **Ruxrungtham K, Bellos N, Morales-Ramirez J, et al.** The metabolic profile of TMC278, an investigational non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI). *4th International AIDS Society Conference on HIV Pathogenesis, Treatment, and Prevention, Sydney, Australia, July 22-25 2007. Abstract TUAB105.*
19. **Corbau R, Allan G, Burt C, et al.** UK-453,061: a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor for the treatment of drug-resistant HIV infections. *47th ICAAC, Chicago, IL, September 17-20 2007. Abstract 2751.*
20. **Fätkenheuer G, Staszewski S, Plettenburg A, et al.** Short-term monotherapy with UK-453,061, a novel NNRTI, reduces viral load in HIV-infected patients. *IAS 2007. Abstract WESS202.*
21. **Bonneau P, Robinson P, Duan J, et al.** Antiviral characterization and human experience with BILR 355 BS, a novel next-generation non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor with a broad anti-HIV-1 profile. *12th CROI, Boston, MA, February 22-25 2005. Abstract 558.*
22. **Murphy R, Zala C, Zhou XJ, et al.** Antiviral activity, safety and pharmacokinetics of IDV899, a novel HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor with high genetic barrier to resistance, in treatment-naive HIV-1-infected patients. *Antiviral Therapy* 2008; 13 Suppl 3:A27.
23. **Jakubik JJ, Chapron C, Hubbard L, Seifer M, Standing DN.** In vitro cross-resistance profile for a next-generation non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor: IDV899. *Antiviral Therapy* 2008; 13 Suppl 3:A28.
24. **Javanbakht H, Li Y, Sweeney Z, et al.** In vitro selection and characterization of viruses resistant to RO-5028, a novel non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor. *Antiviral Therapy* 2008; 13 Suppl 3:A23.
25. **Klumpff K, Dunn J, Su G et al.** Preclinical profile of R7180, a prodrug for the novel NNRTI RO-5028, with high antiviral potency against wild-type and NNRTI-resistant viruses. *Antiviral Therapy* 2008; 13 Suppl 3:A29.

Gli inibitori della maturazione

Antonella Castagna

Dipartimento
di Malattie Infettive,
IRCCS San Raffaele, Milano

Nonostante l'ampia disponibilità di nuovi farmaci antiretrovirali, efficaci e ben tollerati, è molto limitato il numero di pazienti definiti "six classes failures", vale a dire pazienti con infezione da HIV, in fallimento virologico, già esposti agli inibitori della trascrittasi inversa, della proteasi, dell'integrasi e agli inibitori dell'entry virale, per i quali vi è un reale bisogno di nuove opzioni terapeutiche. In questo scenario vi è grande interesse nel seguire lo sviluppo degli inibitori della maturazione, una nuova classe di antiretrovirali che ha come *target* specifico non l'inibizione delle componenti enzimatiche della particella virale, bensì l'interazione con una componente strutturale del *core* virale, la proteina Gag, indispensabile nella fase finale di assemblaggio di un virione infettivo e maturo.

Bevirimat (PA-457), in fase di sviluppo clinico ad opera della Panacos, è il capostipite di questa nuova classe farmacologica.

Il farmaco ha dimostrato una potente attività antivirale anche nei confronti di isolati virali resistenti ai farmaci antiretrovirali attualmente disponibili. Bevirimat blocca un passaggio terminale della fase di processazione di Gag e, precisamente, il rilascio del capsido proteico CA/p24 a partire dal precursore capsidico CA-SPI/p25 con conseguenze eclatanti dal punto di vista morfologico: l'osservazione in microscopia elettronica di colture virali esposte a bevirimat permette chiaramente di constatare che le particelle virali non presentano la classica struttura conica del *core* virale, ma si evidenziano strutture aberranti, parzialmente immature con una disposizione acentrica delle nucleoproteine. Il blocco della processazione di Gag si traduce, pertanto, in una difettosa condensazione del *core* virale e nel rilascio di particelle virali difettive, incapaci di infettare nuove cellule (**figura 1**).

Bevirimat è stato somministrato fino ad oggi a circa 500 persone tra pazienti e volontari sani in dosi singole o multiple variabili da 25 a 400 mg. E' attualmente somministrato come

I nuovi farmaci hanno come target l'interazione con la proteina Gag, componente strutturale del core virale indispensabile all'assemblaggio di un virione infettivo e maturo

Figura 1 Virioni di HIV-1 osservati al microscopio elettronico



Immaturo



Maturo



Trattati con PA-457

L'esposizione delle colture virali a bevirimat (PA-457) blocca la maturazione virale e, di conseguenza, il rilascio di particelle virali infettanti

Adattato da Li et al, PNAS 2003



Dopo 14 giorni di terapia con bevirimat, si è ottenuta una riduzione media della viremia di 0.6 log₁₀ in pazienti in fallimento virologico e resistenti agli inibitori della trascrittasi inversa e della proteasi

soluzione orale e sono in corso studi per ottenere un miglioramento della formulazione. Per il momento il farmaco è risultato ben tollerato e non sono state identificate tossicità specifiche. Bevirimat è altamente legato alle proteine, è metabolizzato a livello epatico attraverso un processo di glucuronidazione, ed eliminato per via biliare, ha un'emivita relativamente lunga di 60-80 ore.

In autunno verranno presentati nel corso del 48° ICAAC i dati finali di efficacia e sicurezza dello studio di fase IIb 203 volto a selezionare la dose ottimale di bevirimat per gli studi di fase III. Si tratta di uno studio di monoterapia funzionale, il cui obiettivo principale è quello di valutare l'attività antivirale di 5 dosi differenti di farmaco nei confronti di placebo in pazienti in fallimento virologico e resistenti agli inibitori della trascrittasi inversa e della proteasi. Al termine dei 14 giorni di trattamento con bevirimat nei 44 soggetti arruolati si è osservata una riduzione media della viremia di 0.6 log₁₀.

Al 17° Congresso Internazionale sulle resistenze, svoltosi a Sitges in giugno, Panacos ha presentato dati retrospettivi interessanti sui fattori predittivi di risposta a bevirimat: i pazienti che albergano un virus con polimorfismi nelle posizioni nucleotidiche 369, 370 o 371 di Gag sembrano rispondere meno favorevolmente al farmaco. Per contro, nei pazienti che non presentavano polimorfismi di Gag e avevano una concentrazione plasmatica di bevirimat >20 ng/mL la riduzione della viremia sarebbe ben più consistente, superiore a 1.25 log₁₀.

Sono già disponibili anche dati preliminari sullo sviluppo di resistenza a bevirimat: studi *in vitro* presentati a Boston (CROI 2008) sembrerebbero avvalorare l'ipotesi che la resistenza a bevirimat insorga meno facilmente in presenza di mutanti resistenti agli inibitori delle proteasi.

Le interazioni dei nuovi farmaci antiretrovirali

Stefano Bonora
Clinica delle Malattie
Infettive, Università di Torino

La farmacopea degli antiretrovirali si è ultimamente arricchita di maraviroc e raltegravir, capostipiti di due nuove classi, nonché di un NNRTI di seconda generazione, etravirina. Poiché quest'ultimo sarà oggetto di una trattazione a parte, in questa sede ci concentreremo sui primi due.

Maraviroc presenta uno spettro di potenziale interattivo con altri farmaci già ben noto nelle sue caratteristiche. Anch'esso, infatti, come i PI e gli NNRTI, è un substrato di CYP 3A4 e della glicoproteina p (P-gp). In tal modo rientra nella problematiche di interazione già da anni note per i farmaci sopra menzionati. D'altro canto, maraviroc non risulta modulare l'attività dello stesso isoenzima o di altri, non esercitando quindi a sua volta alcuna induzione od inibizione dei farmaci cosomministrati.

Per queste caratteristiche maraviroc deve essere somministrato con una riduzione del dosaggio (150 mg bid) quando associato ad un PI con *boosting* di ritonavir, mentre il suo dosaggio deve essere incrementato a 600 mg bid quando associata ad agente induttore, per esempio efavirenz o etravirina. Vi sono delle eccezioni a questa regola. Tra i PI, per esempio, nessun adeguamento posologico si è dimostrato con tipranavir/ritonavir, malgrado l'effetto inducente di quest'ultimo. D'altro canto, anche con nevirapina non è richiesto alcun incremento di dosaggio. Interessante notare, tra le rifamicine, che anche rifabutina sembra non alterare significativamente il profilo farmacocinetico di maraviroc, mentre con rifampicina, prototipo del farmaco induttore di CYP3A4, è richiesto un incremento del dosaggio a 600 mg bid. Tutti gli schemi posologici consigliati necessiterebbero comunque di una verifica nel singolo paziente con la determinazione della concentrazione plasmatica di maraviroc. Tale composto, infatti, ha mostrato di essere caratterizzato da una correlazione tra esposizione plasmatica ed efficacia, nonché di presentare fenomeni di ipotensione ortostatica correlabili a concentrazioni elevate.

A tale riguardo è da sottolineare l'ampia variabilità interindividuale di esposizione plasmatica, come emerso da sottostudi dei *trial* Motivate. In questi studi si evidenzia che un elemento aggiuntivo di tale variabilità è rappresentato dall'associazione con i PI: i pazienti che assumono il dosaggio ridotto (150 mg bid) in associazione a questi ultimi hanno concentrazioni medie più elevate dei pazienti che assumono il dosaggio standard 300 mg bid, evidentemente in regimi senza *boosted* PI. Questo suggerisce anche che gli attuali schemi di adeguamento posologico risentono dell'ovvio limite della formulazione farmaceutica. L'entità dell'interazione non è certo omogenea all'interno delle diverse classi. Per esempio l'incremento delle concentrazioni di maraviroc risulta più marcato con saquinavir/ritonavir che non con lopinavir/ritonavir o atazanavir/ritonavir, eppure l'aggiustamento posologico consigliato è il medesimo.

Non ultimo, consideriamo l'eseguità dei dati disponibili sulle interazioni. La maggior parte di questi proviene da studi di scarsa numerosità, effettuati non infrequentemente su vo-

Per l'inibitore del co-recettore CCR5 maraviroc sono eseguiti i dati sulle interazioni e i risultati ottenuti finora non sono rappresentativi della variabilità delle diverse situazioni cliniche



Raltegravir sembra possedere un potenziale di interazioni più limitato ma rimane da chiarire il reale impatto nella pratica clinica

lontani sani, e talvolta con un gruppo di controllo storico. In attesa di dati che provengano dalla pratica clinica, è plausibile ritenere che tali studi possano non essere sufficientemente rappresentativi della variabilità dell'entità delle interazioni riscontrabile nella pratica clinica. L'insieme di queste considerazioni deve spingere a considerare i consigli posologici come ausili utili ma non necessariamente esaustivi o inappuntabili, e comunque, come sopra ricordato, non vicarianti la misurazione delle concentrazioni plasmatiche di farmaco. Ricordiamo che questo è tanto più vero considerando la possibile associazione con composti non antiretrovirali per i quali mancano a tutt'oggi dati di interazione con maraviroc (per esempio, molti anticonvulsivanti).

Raltegravir, invece, sembra presentare un potenziale di interazione più limitato. Questo composto non è substrato (né induttore o inibitore) del sistema del citocromo P 450, e pertanto viene definito senz'altro a basso rischio in tale ambito. La metabolizzazione avviene principalmente a livello epatico attraverso meccanismi di glucuronazione (enzima UGT1A1). Per tali caratteristiche a tutt'oggi non è prevista alcuna modificazione posologica di questo farmaco, né gli sono attribuite chiare controindicazioni per problematiche di interazione farmacologica. I dati disponibili indicano che ad ogni buon conto raltegravir non è scevro da queste ultime, probabilmente perché esiste da parte di alcuni composti la possibilità di modulare direttamente o indirettamente anche la via metabolica di raltegravir stesso. Per esempio, induttori enzimatici come efavirenz e tipranavir/ritonavir riducono l'AUC del 24-36%, e la rifampicina del 40%. Questo viene considerato di incerto significato clinico, in quanto sino ad oggi non è emerso un chiaro rapporto concentrazione-efficacia, e comunque non meritevole di adeguamenti posologici.

In considerazione anche di quanto riportato in questo stesso numero nel report del 9° Workshop di Farmacologia Clinica, in realtà restano ancora aree grigie nella comprensione della relazione concentrazione-efficacia di raltegravir, pertanto il reale impatto di tali interazioni andrà saggiato nella pratica clinica. Atazanavir, al contrario, incrementa l'esposizione plasmatica a raltegravir, indipendentemente dal *booster* di ritonavir (che pare non avere alcun effetto sulla farmacocinetica di quest'ultimo). La *C_{trough}* e l'AUC di raltegravir, infatti, aumentano rispettivamente del 77% e del 41% in presenza di questo PI. Anche in questo caso, in assenza di qualsivoglia evidenza di effetti tossici concentrazione-dipendenti, tale incremento non viene a tutt'oggi considerato di significato clinico.

XVII International HIV Drug Resistance Workshop

Stefano Rusconi Dipartimento di Scienze Cliniche "Luigi Sacco", Sezione di Malattie Infettive e Immunopatologia, Università degli Studi di Milano

Le presentazioni si sono focalizzate su svariate tematiche riguardanti la resistenza di HIV ai farmaci antiretrovirali, senza però dimenticare la resistenza farmacologica a HBV e HCV. I temi che hanno contraddistinto l'edizione di quest'anno sono stati la resistenza agli inibitori dell'integrasi (in particolare raltegravir), i nuovi farmaci e il loro profilo di resistenza, gli inibitori del co-recettore CCR5 e in generale il ruolo dei co-recettori ed il "dilemma" della resistenza ad etravirina (TMC125).

Per quanto riguarda gli inibitori dell'integrasi (II), sono stati illustrati i risultati longitudinali del *trial* MK-P005 (raltegravir [RAL], fase II). Tra i pazienti arruolati, 35 presentavano un genotipo, 33 due genotipi e 23 tre genotipi (60% 2 mutazioni e 40% >2 mutazioni). Il profilo di resistenza maggiormente rilevato era Q148H, principalmente al 3° genotipo. N155H come singola mutazione è abbondante nel primo genotipo e diminuisce nel tempo, indicando uno svantaggio replicativo, mentre la combinazione N155H+Q148H scompare dal 1° al 2° genotipo. 7 pazienti hanno presentato la variazione da N155H+Q148H a Q148H, mentre 5 pazienti da N155H a Q148H. E' stata evidenziata la tendenza verso una risposta virologica più protratta (misurata tramite TLOVR) nei pazienti con N155H senza Q148H. La capacità replicativa (RC) si è rivelata un importante fattore per la selezione delle mutazioni. Al momento non è stato possibile enucleare fattori che spingano il virus ad intraprendere una *pathway* piuttosto che l'altra, né tanto meno è stata dimostrata una correlazione farmacocinetica (*Miller MD, Abstract A8*).

S. Fransen di Monogram ha presentato l'evidenza di *pathway* di resistenza non sovrapposti sui campioni provenienti dagli studi BENCHMRK. Le mutazioni preponderanti sono state 148R/H/K e 155H. La mutazione Y143C(R) è apparsa solo in 2 soggetti e ha determinato un alto livello di resistenza. E' stata condotta l'analisi clonale in 5 pazienti: sia il profilo N155H che Q148H determinano la riduzione della RC. L'aggiunta di 140S a 148H/K causa un aumento di RC. Non è stato ancora eseguito il confronto della RC con diversi profili mutazionali nella trascrittasi inversa (RT) e nella proteasi (PRO) (*Fransen S, Abstract A9*).

H. Hatano della coorte SCOPE ha presentato 13 soggetti con una risposta virologica durante la terapia con RAL. Uno dei pazienti, con la singola mutazione N155H, ha mostrato un aumento di HIV-RNA quando RAL è stato interrotto, indicando un "costo" a carico della RC. Nondimeno, la conta CD4 è aumentata anche nei pazienti in fallimento. E' questa la dimostrazione di una residua attività antivirale, come si verifica a volte con altri composti? Questa potrebbe essere una caratteristica peculiare di questa classe di farmaci (*Hatano H, Abstract A12*).

Sono state presentate analisi molto interessanti sulla *fitness* relativa dei mutanti virali agli inibitori dell'integrasi (II). ZiXin Hu di Harvard ha mostrato che in assenza di farmaco, i virus mutati con 148R/H/K e 155H possiedono una RC ridotta confrontata al *wild-type*.

In primo piano gli studi sulle resistenze a raltegravir, con dati molto interessanti sulla fitness relativa dei mutanti virali agli inibitori dell'integrasi

Presentati i dati clinici del nuovo inibitore della maturazione bevirimat e di nuovi NNRTI

Sebbene la mutazione 148H riduce sostanzialmente la RC quando presente da sola, la RC viene incrementata se sono contemporaneamente presenti altre mutazioni nell'integrasi quali E138K e G140S. Le mutazioni E92Q e G163R, ma non L74M, consentono di recuperare la RC dei mutanti N155H (*Hu Z, Abstract A84*).

CAVEAT

- Dovremmo mantenere i pazienti che falliscono RAL, con sviluppo di resistenze, con la medesima terapia? I virus con mutazioni primarie e secondarie potrebbero probabilmente essere sensibili agli II di seconda generazione (Merck).
- HIV non deriva un vantaggio replicativo dall'accumulo delle mutazioni agli II (N155H+Q148H).
- Bassa barriera genetica degli II: dipende dalla terapia di *background*, ma in maniera diversa dagli inibitori non-nucleosidici della RT (NNRTI); non sembra essere evidente il ruolo predominante di una singola mutazione (al pari della K103N).

Le novità più interessanti sui nuovi farmaci hanno riguardato bevirimat (PA-457), un inibitore della maturazione, e IDX899 e RO-5028 (e il suo pro-farmaco R7180), 2 nuovi NNRTI. PA-457 è stato analizzato nello studio 203, in cui il farmaco era aggiunto ad un regime in fallimento come monoterapia funzionale. Sono stati esaminati 19/20 soggetti *responder* e 19/24 *non-responder*: entrambi i gruppi presentavano livelli pK ottimali (Cvalle ≥ 20 ng/mL). Non è stata evidenziata alcuna differenza nelle mutazioni primarie in PRO o nei polimorfismi in Gag (aa 320-400). I soggetti senza alcun cambiamento alle posizioni Q369, V370 e T371 (regione SP1) mostravano una riduzione di 1.08 log₁₀ nell'HIV-RNA alla fine dei 14 giorni di terapia. Il polimorfismo V370A è stato evidenziato nel 25.4% nel totale dei pazienti arruolati. L'assenza di questi polimorfismi in Gag in altre coorti è stata quantizzata nel 60.2% in pazienti naive (Harrigan, UBC) e 68.3% in pazienti trattati con PI (Malet, Parigi) (*Mc Allister S et al, Abstract A10*).

L'efficacia di IDX899 è stata descritta in uno studio di monoterapia (dosaggi 200, 400 o 800mg die) della durata di 7 giorni. La riduzione media di HIV-RNA è stata di 1.78-1.83 log₁₀ e la conta CD4 ha presentato un incremento di circa 60 cellule/ μ L. Non è stata evidenziata una netta relazione pK/pD, probabilmente a causa dei livelli di farmaco ben al di sopra dell'EC90 degli isolati *wild-type*. Per questo motivo il protocollo è stato emendato ed è stato aggiunto il dosaggio di 100mg die (*Murphy R, Abstract A27*). Esperimenti *in vitro* hanno evidenziato due distinte *pathway* per lo sviluppo di resistenza a IDX899 (E138K o V90I/Y181C); mutazioni aggiuntive, quali M230L, sono necessarie per il raggiungimento di un alto livello di resistenza. Etravirina (TMC125) e rilpivirina (TMC278) non hanno mostrato alcuna attività nei confronti degli isolati resistenti a IDX899. Il farmaco è risultato più attivo di TMC125 e equivalente a TMC278 in un pool di virus resistenti a NNRTI (*Jakubik JJ, Abstract A28*).

CAVEAT

- Pur comprendendo le preoccupazioni per la tossicità a lungo termine, che giustificherebbero la riduzione del dosaggio a 100mg die, non si corre il rischio di abbassare eccessivamente l'AUC e pertanto incorrere nell'insorgenza di mutazioni che potenzialmente influiscono sulla bassa barriera genetica di questa classe di composti?

Sitges, 10-14 giugno 2008

ReAdfiles

E' stata presentata la caratterizzazione *in vitro* di RO-5028 (HXB2 in cellule MT-4), evidenziando due distinte *pathway*: V106A+F227L o V106I+Y188L che differiscono da quanto accade per efavirenz e TMC125. Queste mutazioni sono meno prevalenti in clinica rispetto alle classiche mutazioni correlate a NNRTI. Lo sviluppo di resistenza al farmaco richiede multiple mutazioni, con l'eccezione di Y188L che da sola conferisce una resistenza fenotipica elevata (IC50 338 nM, aumento 260 FC) (*Javanbakht H, Abstract A23*). Il pro-farmaco di RO-5028, R7180, ha dimostrato di possedere un'alta esposizione nei cani e nei ratti, con un favorevole profilo di tossicità negli studi preclinici condotti fino a 4 settimane (*Klumpp K, Abstract A29*).

Il ruolo degli inibitori del co-recettore CCR5 e la determinazione del tropismo virale hanno coinvolto molteplici presentazioni ed animato la discussione. Athe Tsibris del Massachusetts General Hospital ha presentato i dati dello studio ACTG 5211 (fase IIb con Vicriviroc [VCV]). Sono state analizzate >950.000 sequenze della porzione V3 della gp120, tramite la metodologia 454 LifeScience. Sono stati analizzati 4 pazienti che presentavano un fallimento virologico: 2 con un cambiamento precoce nell'uso del co-recettore (da CCR5 a CXCR4), uno con un alto grado di resistenza a VCV e l'emergenza tardiva di una popolazione minoritaria CXCR4-tropica e un altro senza modificazioni nell'uso del co-recettore o sensibilità a VCV. Le varianti di V3 associate alla perdita di risposta a VCV erano presenti prima della somministrazioni del farmaco, sia sotto forma di sequenze virali CXCR4-tropiche o varianti differenti ma che impiegavano CCR5. Varianti virali minoritarie presenti <1% al baseline emergono rapidamente in seguito al trattamento con VCV e contribuiscono al fallimento virologico (*Tsibris A, Abstract A97*). Esperimenti *in vitro* hanno indicato che 2 mutazioni nella regione V3 sono responsabili della resistenza a SCH-C: K305R e G321D singole o in combinazione. Tali mutazioni determinano anche l'abolizione dell'infettività virale. Una singola sostituzione nella porzione C2 della gp120 è in grado di ripristinare l'infettività virale (*Huang W, Abstract A65*). Sempre i dati provenienti dallo studio ACTG 5211 sono stati re-analizzati con il test Trofile® ad aumentata sensibilità (Trofile ES®). I cloni virali X4 sono stati evidenziati quando presenti allo 0.3%; non si tratta ancora di un dato quantitativo ma la soglia di sensibilità del test è stata aumentata >65 volte (*Trinh L, Abstract A128*). Con Trofile ES®, 25 isolati virali sono stati riclassificati come dual/mixed (D/M), 15/25 avevano ricevuto VCV e 12/15 mostravano l'emergenza dell'isolato X4. E' comparsa una differenza significativa, dopo la re-analisi del dato al baseline, per la risposta dell'HIV-RNA (R5: -1.83log10; D/M: -0.77 log10) al giorno 14 e alla settimana 24, ma non nella conta CD4 (*Su Z, Abstract A98*).

CAVEAT

- E' ancora *in fieri* la tecnologia che consenta la quantificazione delle varianti CXCR4-tropiche o D/M.
- La detezione a percentuale molto ridotta di varianti X4, potrebbe compromettere l'impiego degli inibitori del CCR5: non c'è il rischio di "bruciare" dei farmaci di cui i pazienti potrebbero beneficiare? E' indispensabile considerare l'attività degli altri composti nella combinazione.

R. Harrigan ha presentato il V3 *deep sequencing* con la piattaforma 454 LifeScience ap-

Molte le presentazioni sugli inibitori del co-recettore CCR5 e sulla determinazione del tropismo virale

La rilevazione ridotta di varianti X4 potrebbe compromettere l'uso dei nuovi farmaci, è perciò importante considerare l'attività degli altri ARV nella combinazione

plicata alla coorte naive HOMER e ai campioni *pre-screening* degli studi Motivate. Le sequenze ottenute sono state discriminate secondo il punteggio PSSM: da > -7 a 0 le sequenze erano classificate D/M o X4, per valori < -7 le sequenze erano classificate R5. In tutti i campioni classificati D/M, ad eccezione di 1, il tropismo X4 era stato evidenziato con una sensibilità del 2%. I genotipi su HIV-DNA provenienti dai 40 pazienti con HIV-RNA < 50 cp/mL e analizzati con PSSM, hanno coinciso con il risultato del test Trofile effettuato prima della terapia con l'inibitore del CCR5 (Moore A, Abstract A99). Parallelamente gli scienziati del Max Planck Institute for Informatics, hanno dimostrato che l'introduzione della sequenza del segmento V2 della gp120 (insieme al V3) può migliorare la predizione dell'uso dei co-recettori. L'analisi è stata validata attraverso il database delle sequenze di Los Alamos e la succitata coorte HOMER (Thielen A, Abstract A100).

R.G. Ptak ha presentato esperimenti volti a selezionare e caratterizzare *in vitro* gli isolati virali resistenti a maraviroc (MVC). In seguito a passaggi seriali, per un totale di 262 giorni, sono state evidenziate modificazioni aminoacidiche sia a carico del V3 che di V2-C3-V4-C4. Il virus ottenuto è stato capace di replicare alla concentrazione di MVC $40 \mu\text{M}$ (IC_{50} 40.000 FC). Non sono disponibili informazioni sull'eventuale cambiamento del tropismo dell'isolato JR-CSF (Wei J, Abstract A64).

L'interpretazione della resistenza a TMC125, derivata dagli studi DUET 1 e 2, è stata oggetto di un dibattito serrato. Le indagini sono state condotte dagli scienziati della Tibotec e della Monogram. Se da un lato il *lower clinical cut-off* (LCCO) è stato definito con buona sicurezza: FC 3 da Tibotec (Vingerhoets J, Abstract A26) e FC 2.9 da Monogram (Coakley E, Abstract A134), i successivi livelli di sensibilità intermedia e resistenza sono ancora incerti. È stato proposto un CCO intermedio di 13, che corrisponde alla riduzione media HIV-RNA di $-1.79 \log_{10}$ (Peeters M, Abstract A133).

Considerando la sensibilità fenotipica come un *continuum*, è difficile per noi clinici stimare quale importanza dare ad un valore che definisce un *cut-off* intermedio. Gli scienziati della Tibotec hanno definito tre livelli di *score* pesato: 0-2 (risposta elevata), 2.5-3.4 (risposta intermedia) e ≥ 4 (risposta ridotta), definito in base ai valori di TMC125 FC al baseline (Vingerhoets J, Abstract A26). Anche il gruppo della Monogram, impiegando un punteggio ridefinito da 1 a 4, è stato in grado di ridurre la frequenza della ridotta sensibilità inaspettata solo al 3.5% (Benhamida J, Abstract A142).

CAVEAT

- Dato che la resistenza genotipica e fenotipica a TMC125 è stata definita al momento solo tramite gli studi DUET (in cui i pazienti ricevevano invariabilmente Darunavir/r) è estremamente difficile avere un'idea del peso esclusivo di TMC125 (anche se i dati presentati a Sitges hanno incluso i dati provenienti dal gruppo placebo come confronto) e della barriera genetica del farmaco.

La mole di informazioni scaturita dal *workshop* sulle resistenze di quest'anno sarà certamente di grande aiuto per l'impiego razionale dei farmaci appartenenti alle nuove classi di farmaci (in particolare, anti-CCR5 e nuovi NNRTI) e per il posizionamento più adeguato nelle diverse linee terapeutiche, al fine di ottenere il massimo risultato per i pazienti che possono beneficiare della "seconda ondata" della HAART.

Milano, 23-27 aprile 2008

43rd Annual Meeting of European Association for the Study of the Liver - EASL

Laura Milazzo Istituto di Malattie Infettive e Tropicali, Ospedale Luigi Sacco, Milano

L'attuale terapia standard dell'epatite C cronica, rappresentata dall'associazione di PEG-IFN e ribavirina, è in grado di indurre una risposta sostenuta in circa il 75% dei pazienti con infezione da genotipi 2 e 3, ma solo nel 40-50% dei genotipi 1 e 4 rispettivamente. Se poi si analizzano i risultati nella popolazione di soggetti coinfecti con il virus HIV, le percentuali di risposta sostenuta scendono, nel genotipo 1, al di sotto del 30%. Inoltre interferone e ribavirina sono gravati da effetti collaterali che spesso ne condizionano negativamente l'utilizzo.

Vasto interesse hanno pertanto suscitato all'ultimo Congresso dell'EASL, svoltosi a Milano dal 23 al 27 Aprile 2008, le relazioni sui nuovi farmaci antivirali attivi su HCV. Diverse sono le novità sia nel settore dello sviluppo di nuove forme di interferone (1), nella ricerca di profarmaci della ribavirina (2) e infine nella sperimentazione di molecole antivirali attive sui diversi stadi replicativi del virus (3).

- 1) Nuove forme di interferone α sono state presentate: in particolare albinterferon (Albuferon-Novartis) è il risultato della fusione di IFN- α e albumina umana, che allunga l'emivita dell'IFN, consentendone la somministrazione ogni 14 giorni. Le segnalazioni di Neumann et al. (Abstract 817, 818) hanno mostrato, su una casistica di 458 pazienti portatori di genotipo 1, una percentuale di risposta sostenuta simile tra Alb-IFN 1200 mcg/2 settimane e PEG-IFN- α 2a, entrambi in associazione con ribavirina a dosaggio standard, sebbene la probabilità di ottenere una rapid viral response (RVR) a 4 settimane fosse superiore con albinterferon. Dati preliminari, *in vitro*, sono stati poi descritti da Blatt LM (Abstract 19) a proposito della forma glicosilata del Consensus-IFN, in grado di aumentarne il peso molecolare e, conseguentemente, l'emivita, senza intaccare le proprietà biologiche.
- 2) La viramidina, profarmaco della ribavirina, garantisce la medesima efficacia, riducendo significativamente l'anemia (trial Viser 1 e 2). La domanda cui rispondere, anche sulla scorta delle segnalazioni che indicano la stretta correlazione tra livelli plasmatici elevati di ribavirina e grado di SVR (Bruno R, Abstract 773; Labarga P, Abstract 801), è se l'utilizzo di molecole meno tossiche non possa consentire di aumentarne il dosaggio e potenziarne l'efficacia.
- 3) Veri protagonisti del Congresso sono stati i nuovi composti antivirali diretti contro HCV e giunti, in alcuni casi, alla fase III di sperimentazione. I più avanzati nello sviluppo clinico appartengono a 3 classi principali: inibitori della NS3/4A proteasi; inibitori nucleosidici e non nucleosidici della polimerasi; inibitori della ciclofillina.

Riguardo ai primi sono stati riportati i risultati dei *trial* di fase II PROVE 1 e PROVE 2 con telaprevir in pazienti infetti da genotipo 1 (McHutchison JG et al. Abstract 4). Le analisi preliminari mostrano che i pazienti posti in triplice terapia (telaprevir + PEG-

Al Convegno di Milano presentate le nuove forme di interferone, le ricerche sui profarmaci di ribavirina, i dati dei nuovi antivirali attivi su HCV

In pazienti con genotipo 1, la triplice terapia telaprevir + PEG-IFN + ribavirina ottiene risultati superiori a PEG-IFN + ribavirina sia in termini di RVR che di EVR

	PEG-IFN + RBV	PEG-IFN + RBV + TVR
N pazienti	81	182
RVR	11%	79%
EVR	39%	70%
ETR	45%	65%*
Sospensione per effetti avversi	3%	11%

Analisi in corso del trial PROVE 1; *riferito alle 48 settimane di trattamento

IFN + ribavirina) ottengono una RVR (HCV-RNA <10 IU/mL a 4 settimane) nel 79% dei casi contro l'11% dei pazienti in duplice associazione (PEG-IFN + ribavirina). La percentuale di *early viral response* (EVR, 12 settimane) risulta essere, nei dati finora analizzati, del 70% nei bracci con telaprevir contro il 39% della terapia standard. È stato sottolineato come su 182 pazienti che assumevano telaprevir, 12 abbiano presentato recidiva durante il trattamento con il riscontro della mutazione di resistenza a telaprevir R155T/I e come questo sia accaduto con maggiore frequenza nei soggetti del PROVE 2 (*Dusheiko GM et al. Abstract 58*) che non assumevano ribavirina, che svolgerebbe pertanto un ruolo protettivo sulla durata di efficacia di telaprevir. Inoltre, le sospensioni legate a effetti collaterali si sono dimostrate superiori in presenza di telaprevir (11% vs 3%), specie a causa di *rash* e disturbi gastroenterici. Altro inibitore della NS3 proteasi alla fase II di sviluppo è boceprevir, che ha mostrato, in associazione a IFN e su pazienti con genotipo 1 *non-responder* a precedenti trattamenti, di indurre una rapida e potente risposta antivirale (*Schiff E. et al. Abstract 104*).

Tra gli inibitori della RNA-polimerasi ancora in fase II di studio, è stato segnalato da Roche R-1626, che avrebbe un elevato potere antivirale in triplice associazione e una buona barriera genetica, ma è gravato da neutropenia severa ai dosaggi fino ad ora indagati.

L'inibitore della ciclofillina Debio 025 (fase II) (*Flisiak R. et al., Abstract 143*), oltre a possedere una potente attività antivirale contro HCV e una ottima barriera genetica, sembra essere attivo anche su HIV.

Ancora in una fase precoce di sviluppo, e pertanto carenti di dati clinici significativi, sono gli inibitori di entrata di HCV e della elicasi.

Sfortunatamente poco spazio è stato dedicato quest'anno alla coinfezione HBV e HCV con HIV. Gli spunti più interessanti sono giunti da Bruno e da Labarga, che hanno sot-

tolineato l'importanza di elevati dosaggi di ribavirina sia per ottenere una RVR nei soggetti HIV/HCV positivi, sia nel ritrattamento di pazienti coinfetti, nei quali i dosaggi plasmatici di ribavirina alla quarta settimana sono risultati correlati alla SVR. Puoti (*Abstract 824*) ha segnalato l'interazione negativa tra abacavir e risposta alla terapia con interferone e ribavirina, a suggerire cautela nell'utilizzo di abacavir in corso di terapia anti-HCV.

Minori, infine, sono state le novità esposte nel campo del trattamento dell'epatite B cronica. L'attenzione maggiore si è focalizzata sui *trial* con tenofovir, risultato potente e sicuro nei soggetti con epatite B cronica sia *naive* che pretrattati con lamivudina (*Heathcote J., Abstract 72; Manns M., Abstract 74*). Anche l'uso dell'associazione di tenofovir + emtricitabina in soggetti con mancata risposta virologica a adefovir ha confermato le ottime potenzialità dell'associazione nei pazienti con infezione da HBV. Infine Poynard T (*Abstract 706*) ha riportato i dati relativi all'elevato grado e durata della sierconversione ad anti-HBe nei pazienti trattati con telbivudina rispetto alla lamivudina. La telbivudina è di attuale interesse specie nel paziente coinfecto HIV/HBV, rappresentando la prima scelta, tra gli analoghi nucleosidici, nel trattamento del paziente *naive* alla terapia antiretrovirale.

Tra gli argomenti più interessanti, l'impatto delle alte dosi di ribavirina nell'ottenimento della RVR e nel ritrattamento dei soggetti coinfecti HIV/HCV e i dati clinici ottenuti con tenofovir anche in associazione a FTC nell'infezione da HBV

9th Int Workshop on Clinical Pharmacology of HIV Therapy

Stefano Bonora Clinica delle Malattie Infettive, Università di Torino

Andrea Antinori III Divisione di Malattie Infettive, Ospedale Spallanzani, Roma

In primo piano gli studi di farmacocinetica e farmacodinamica di raltegravir e alcuni suggerimenti alternativi di utilizzo di ATV senza boosting

Per quanto riguarda la farmacocinetica dei composti di più recente introduzione nella pratica clinica, il gruppo di Wenning ha presentato una valutazione PK/PD degli studi di fase III con raltegravir, evidenziando come la C_{min} non rappresenti un fattore predittivo di successo virologico. D'altro canto, un parametro di valutazione mediana dell'esposizione a raltegravir (media geometrica di 4 determinazioni a diversi orari dall'assunzione) è, invece, risultato predittivo di successo virologico a 16 settimane, pur con minore forza rispetto a parametri clinici come farmaci di accompagnamento attivi e carica virale basale.

In ogni caso questo sembra suggerire che la correlazione tra esposizione farmacologica ed efficacia nota per PI ed NNRTI esista anche per raltegravir, farmaco tra l'altro considerato a bassa barriera genetica, pur se non è ancora chiaro quali siano i migliori parametri per indagarla (AUC o C_{max} anziché C_{min} o concentrazioni intracellulari) nell'ambito di studi clinici con *follow up* adeguato.

Per quanto attiene al potenziale di interazione, raltegravir viene considerato estremamente maneggevole in quanto non metabolizzato dagli isoenzimi del citocromo p450. In realtà sappiamo che anch'esso non è esente dal tale rischio. In questo congresso il gruppo di Rhame (*Abstract 019*) ha evidenziato una riduzione di circa il 30% della C_{min} di raltegravir quando cosomministrato con LPV/RTV, mentre il gruppo francese di Peytavin (*Abstract 025*) ha mostrato un effetto di induzione da parte di tipranavir, con circa un quarto dei pazienti che presentavano una concentrazione di valle di raltegravir al di sotto di quella che ad oggi viene considerata la concentrazione minima efficace. In ogni caso il reale impatto clinico di questi rilievi è sconosciuto, in considerazione dell'ampia variabilità intra- e forse anche inter-individuale della farmacocinetica di raltegravir, e non si traduce allo stato attuale in suggerimenti posologici.

Una possibile strategia alternativa di utilizzo di atazanavir senza *boosting* è stata indagata dal nostro gruppo (*Abstract 017*). La somministrazione di atazanavir 200 mg bid invece che al dosaggio standard di 400 mg qd, in entrambi i casi con tenofovir, permette di migliorare la farmacocinetica di questo PI, incrementando la C_{min}, diminuendo la C_{max} e mantenendo sostanzialmente la stessa esposizione plasmatica totale. Questo studio pilota potrebbe suggerire ulteriori valutazioni cliniche per sottogruppi selezionati di pazienti, visto l'incremento dell'utilizzo, almeno sul territorio nazionale, di atazanavir senza ritonavir, spesso anche in associazione a tenofovir. D'altro canto, uno studio effettuato in pazienti thailandesi di basso peso (*Abstract P10*) ha mostrato in questo caso la percorribilità dal punto di vista farmacocinetico di una riduzione del dosaggio di *boosted* atazanavir a 200 qd con 100 mg di ritonavir. Un altro aspetto interessante del convegno è stato rappresentato dai risultati emersi sui rapporti tra farmacocinetica e farmacodinamica di darunavir. Tre diversi gruppi

(Abstract 022, P46 P48) hanno variamente confermato il ruolo del quoziente inibitorio come predittore di successo virologico di darunavir. Il nostro gruppo (Abstract 022) ha suggerito anche un possibile valore di *cut-off* di quoziente inibitorio genotipico (gIQ, rapporto tra *Ctough* e numero di mutazioni di resistenza specifiche) per quanto attiene la prevedibilità a 24 settimane.

Al di là dell'eterogeneità delle casistiche, questi dati, ottenuti al di fuori dei *trial* clinici, sottolineano come l'esposizione farmacologica può essere considerata un parametro non secondario nello studio della predittività del successo di regimi contenenti darunavir. Sempre a riguardo del più recente PI, si è evidenziato (Abstract 016) un incremento del 20% dell'esposizione plasmatica (e del 70% di ritonavir) nei pazienti di sesso femminile, ma non differenze in merito a razza, peso, BMI, presenza di HCV-positività. La complessità crescente delle interazioni ed i legami con la genetica sono esemplificati dal lavoro di Kwan (Abstract 04), che dimostra come darunavir, lopinavir e TMC-278 siano substrati di un trasportatore di membrana, denominato OATP1B1, implicato nell'*uptake* epatico di molti cataboliti. In questo senso, tali anti-retrovirali competono con altre molecole, come le statine (pravastatina), modulandone l'*uptake* epatico e potendo determinare in ultima analisi un incremento delle concentrazioni di queste ultime dovuta a rallentata clearance dal plasma. Il diverso grado di diversa attività ed affinità di tali trasportatori, determinata da polimorfismi genetici, spiega la grande variabilità interindividuale di tali tipologia di interazioni, già emersa in passato per quanto attiene a darunavir e pravastatina. In questo perimetro Shalcross ha mostrato (Abstract 03) come polimorfismi del gene codificante influenzino un diverso grado di esposizione plasmatica (ma anche di penetrazione epatica) di LPV e RTV. Fra i farmaci ancora in fase di sviluppo, è interessante notare che atazanavir (400 mg qd) risulta avere delle capacità di *boosting* su elvitegravir sovrapponibili a quelle di ritonavir 100 mg, pur se quest'ultimo potrebbe influenzare in senso negativo l'esposizione plasmatica dello stesso atazanavir (Abstract 018).

Due lavori (Abstract 09 e 011) hanno evidenziato la possibilità dell'utilizzo di saquinavir/ritonavir 1000/100 mg bid in qualsiasi epoca della gravidanza senza un apparente rischio significativo di esposizione subottimale, fornendo risultati in parte contraddittori sull'entità di riduzione della concentrazione di saquinavir nell'ultimo trimestre ma concordando sul mantenimento dell'adeguatezza dell'esposizione anche in caso di tale riduzione.

Interessanti dati sul rapporto PD/PK di darunavir: l'esposizione farmacologica può essere considerata un parametro non secondario nello studio della predittività del successo di regimi contenenti il nuovo PI

Budapest, 26-28 marzo 2008

Report dal 6th European HIV Drug Resistance Workshop

Gli inviati di ReadFiles hanno seguito il workshop ungherese, che ha visto la partecipazione di oltre 400 delegati, cercando di cogliere le notizie e gli aggiornamenti più interessanti sulle resistenze, che vengono proposti ai lettori divisi per sessione di presentazione

Claudia Balotta Dipartimento di Scienze Cliniche, Ospedale 'L.Sacco', Università di Milano

Sessione 1 - *Epidemiology of HIV Resistance*

I dati sulle strategie di sorveglianza e monitoraggio della resistenza nei paesi a risorse limitate indicano che oggi la resistenza primaria non supera il 5%

La prima sessione del 6° European HIV Drug Resistance Workshop, è stata aperta dalla lettura del Dr. A. De Luca, Università del Sacro Cuore, Roma, focalizzata sulle strategie di sorveglianza e monitoraggio della resistenza ad HIV nei paesi a risorse limitate, a partire dai principali studi condotti da istituzioni accademiche, governi, organizzazioni non governative (Laaser program, TreatAsia, Paser, ANRS, Pasteur Network, WATCH) e dal WHO (ResNet) che sono stati disegnati, oltre che ai fini di ricerca, anche allo scopo di fornire in loco *capacity building*, attraverso il *training* di medici e personale di laboratorio, la creazione di una rete di laboratori con controlli di qualità dei risultati prodotti, il supporto al personale deputato alla definizione dei programmi di terapia e alla creazione di un database internazionale di tipo osservazionale. Questi studi, in aggiunta alla definizione della prevalenza nei soggetti *naïve* per la terapia antiretrovirale e all'emergenza di mutazioni nei soggetti trattati avevano come obiettivo anche la definizione di strategie ottimali per le terapie di 1a e 2a linea, della profilassi pre- e post-esposizione e della prevenzione della trasmissione madre bambino.

Sono state esaminate le difficoltà degli studi di sorveglianza: selezione della popolazione (soggetti con infezione recente rispetto ai soggetti con infezione cronica), rappresentatività dei campioni (raccolta consecutiva rispetto all'uso dei campioni disponibili), omogeneità degli studi che si comparano, tecniche impiegate (sangue intero rispetto a plasma, metodi standard rispetto ai test ultrasensibili), lista delle mutazioni di resistenza utilizzata per la valutazione della resistenza.

Le **Tabelle 1, 2 e 3** riportano autori, rivista di pubblicazione, popolazione e risultati dei principali studi che suggeriscono che **i)** attualmente la resistenza primaria è contenuta sotto la soglia del 5%, **ii)** la resistenza primaria può avere implicazioni sulla terapia di prima linea contenente NNRTI per le donne e per i bambini infettatisi verticalmente trattati con una singola dose di nevirapina e **iii)** prevalenze superiori possono essere presenti e rappresentare un ostacolo per il successo dell'HAART in paesi a risorse intermedie dove le terapie subottimali sono state disponibili per qualche anno.

Tabella 1 Autori, rivista di pubblicazione, popolazione e risultati dei principali studi della resistenza primaria nei paesi a risorse limitate

Studio	Paese	Popolazione	n	% resistenza primaria
Toni T et al. <i>AIDS Res Hum Retroviruses. 2007; 23: 1155-60</i>	Costa d'Avorio	Infezioni recenti	100	6
Bertagnolio S et al. <i>Antivir Ther. 2007; 12: 107-13</i>	Messico	Nuove diagnosi	91	10
Sagoe KW et al. <i>J Clin Virol. 2007; 40: 163-7</i>	Ghana	Pazienti naive	25	0
Church JD et al. <i>AIDS Res Hum Retroviruses. 2007; 23: 764-8</i>	Africa (diversi paesi)	Donne gravide	254	0.5
Derache A et al. <i>Antivir Ther. 2007; 12: 123-9</i>	Mali	Pazienti naive	98	2
Kassu A et al. <i>2007 AIDS Res Hum retroviruses.; 23:564-8</i>	Etiopia	Pazienti naive con tubercolosi	92	2.2
Vidal N et al. <i>AIDS Res Hum Retroviruses. 2007; 23: 175-80</i>	Burundi	Sorveglianza anonima	119	0.8
Bessong PO et al. <i>AIDS Res Hum Retroviruses. 2006; 22: 1306-12</i>	Sud Africa (zona rurale)	Pazienti naive	40	2.5
Mareshal V et al. <i>AIDS Res Hum Retroviruses. 2006; 22: 1036-44</i>	Repubblica Centro Africana	Donne gravide	150	0
Nadembega WM et al. <i>J Med Virol. 2006; 78: 1385-91</i>	Burkina Faso	Pazienti naive	17	0
Vergne L et al. <i>Antivir Ther. 2006; 11: 575-9</i>	Burkina Faso	Nuove diagnosi	97	8
Vergne L et al. <i>Antivir Ther. 2006; 11: 575-9</i>	Cameroon	Nuove diagnosi	102	8
Tebit DM et al. <i>J Acquir Immune Defic Syndr. 2008; 49: 17-25</i>	Burkina Faso (zona rurale)	Donne gravide	43	2.3
Ojesina AI et al. <i>AIDS Res Hum Retroviruses. 2006; 22: 770-9</i>	Nigeria	Pazienti naive	35	17
Vidal N et al. <i>AIDS Res Hum Retroviruses. 2006; 22: 202-6</i>	Congo	Pazienti naive	70	4.3
Agwale SM et al. <i>AIDS Res Hum Retroviruses. 2006; 22: 22-6</i>	Nigeria	Pazienti naive	19	0
Maslin J et al. <i>Antivir Ther. 2005; 10: 855-9</i>	Djibouti	Sorveglianza anonima	47	8.5
Petch LA et al. <i>AIDS Res Hum Retroviruses. 2005; 21: 799-805</i>	Malawi	Pazienti naive	21	0
Kinomoto M et al. <i>Clin Infect Dis. 2005; 41: 243-51</i>	Ghana	Pazienti naive	39	0
Bellocci MC et al. <i>J Med Virol. 2005; 76: 452-8</i>	Mozambico	Pazienti naive	58	0
Bussmann et al. <i>J Acquir Immune Defic Syndr. 200; 45: 269-7</i>	Botswana	Pazienti naive	71	0
Servasi J et al. <i>AIDS Res Hum Retroviruses. 2004; 20: 279-83</i>	Ruanda	Pazienti naive	43	0
Konings FA and Nyambi PN. <i>AIDS Res Hum Retroviruses. 2004; 20: 673-8</i>	Cameroon (rural)	Pazienti naive	128	0
Handema R et al. <i>AIDS Res Hum Retroviruses. 2003; 19: 151-60</i>	Zambia	Pazienti naive	28	0
Gordon M et al. <i>J Virol. 2003; 77: 2587-99</i>	Sud Africa	Pazienti naive	72	4.2
Pandrea I et al. <i>AIDS Res Hum Retroviruses. 2002; 18: 1103-16</i>	Gabon	Pazienti naive	31	0
Toni T et al. <i>AIDS Res Hum Retroviruses. 2003; 19: 713-7</i>	Costa d'Avorio	Infezioni recenti	98	0
Pillay D et al. <i>AIDS Res Hum Retroviruses. 2002; 18: 605-10</i>	Sud Africa	Donne gravide	37	0

In paesi a risorse intermedie la resistenza primaria può presentare prevalenze superiori al 5%, per la disponibilità di terapie subottimali per qualche anno

Tabella 2 Autori, rivista di pubblicazione, regimi antiretrovirali e risultati dei principali studi della resistenza nelle madri dopo prevenzione della trasmissione verticale nei paesi a risorse limitate

Studio	Regimi	Tempo del test (settimane)	RESIST per NNRTI %
Chaix ML et al. <i>J Infect Dis.</i> 2006; 193: 482-7	scAZT/3TC+sdNVP	4	1.1 (8.3 per 3TC)
Chi BH et al. <i>Lancet.</i> 2007; 370: 1698-705	sdTDF/FTC+sdNVP vs scAZT+sdNVP	6	12 vs 25
Shapiro R et al. <i>L AIDS.</i> 2006; 20: 1281-8	scAZT+ sdNVP	4	45
Toni TD et al. <i>AIDS Res Hum Retroviruses.</i> 2005; 21: 1031-4	sdNVP	4	21
Eshleman SH et al. <i>AIDS Res Hum Retroviruses.</i> 2004; 20: 595-9	sdNVP	1-6/8	32

scAZT: short course di AZT sdNVP: NVP in dose singola

Tabella 3 Autori, rivista di pubblicazione, paesi, trattamenti e risultati dei principali studi della resistenza nei bambini dopo prevenzione della trasmissione verticale nei paesi a risorse limitate

Studio	Paese	Trattamenti	Resistenza a NNRTI %
Martinson NA et al. <i>J Acquir Immune Defic Syndr.</i> 2007; 45: 206-9	Sud Africa	sdNVP	45 (181C: mutazione più frequente)
Eshleman SH et al. <i>AIDS.</i> 2005; 19: 2167-9	Malawi, Uganda	sdNVP	87 in sottotipo C 50 in sottotipi A e D

Nei paesi a risorse limitate la resistenza primaria può avere implicazioni sulla terapia di 1^a linea con NNRTI nelle donne e nei bambini con infezione verticale e trattati con una dose di nevirapina

La seconda parte della comunicazione del Dr. De Luca ha riguardato i risultati già disponibili relativi all'insorgenza della resistenza nelle coorti che hanno iniziato un'HAART in quanto le iniziative di sorveglianza citate hanno l'obiettivo di monitorare, secondo un disegno sperimentale fattibile ma rigoroso (a 12 mesi o al cambio di terapia per fallimento virologico), la resistenza secondaria al fine di assicurare l'efficacia dei regimi di prima e seconda linea. Nella **Tabella 4** sono riportati gli studi pubblicati che indicano che **i)** anche se i risultati ad oggi disponibili sono ancora limitati, le frequenze della resistenza per le varie classi nei regimi ottimali non sono superiori a quella attese, **ii)** i cambi precoci di terapia al fallimento preservano le opzioni tra gli NRTI, **iii)** i cambi non dovrebbero essere né troppo precoci, sulla base dei costi e della limitata disponibilità dei regimi di seconda linea e dell'assenza di una terza linea, né troppo tardivi per evitare monoterapie funzionali dei PI boosted anche sulla base della loro potenza limitata nel tempo.

Le conclusioni hanno riguardato le strategie operative per preservare l'attività degli NRTI nelle terapie di seconda linea, che hanno come principali ostacoli i costi del monitoraggio della carica virale, i costi e l'eventuale tossicità di regimi non basati su analoghi timidinici e l'utilizzo di PI boosted in prima linea che in uno studio (Freedberg KA et al., *AIDS* 2007; 21:S117-2) si è rivelato meno vantaggioso in termini di costi benefici rispetto agli NNRTI. Le considerazioni finali hanno riguardato i trend dei costi delle terapie di seconda linea secondo la Fondazione Clinton. Le comunicazioni seguite a questa lettura sono consultabili sul sito www.virology-education.com.

Tabella 4 Autori, rivista di pubblicazione, paese, regimi e risultati dei principali studi della resistenza secondaria nei paesi a risorse limitate

Studio	Paese	Regimi	Resistenza %	Commento
Kanya et al. <i>J Acquir Immune Defic Syndr</i> 2007; 46: 187-93	Uganda	D4A/3TC/NNRTI per 12 mesi	184V, NNRTI	TAM assenti
Sungkanupargh et al. <i>Infect Dis.</i> 2007; 7: 14	Tailandia	D4T/3TC/NVP per 20 mesi	92 NNRTI 89 184V 37 TAM 6 65R	Più TAM se VL>4Log
Weidle et al. <i>Lancet.</i> 2002; 360: 34-40	Uganda	Regimi vari includenti 2 NNRTI	78 NRTI	Maggiore se su 2 NRTI
Seyler C. et al. <i>AIDS</i> 2007; 21: 1157-64	Costa d'Avorio	ART per 3 anni	22%	
Marcelin AG et al. <i>AIDS</i> 2007; 21:2341-3	Mali	D4T/3TC/NVP	50 NNRTI e 3TC (181C e 184V)	TAM assenti
Novitsky V et al. <i>Clin Infect Dis.</i> 2007; 45: e68-71	Botswana	AZT/ddI/NNRTI	67N, 70R, 215Y	Unico pattern
Laurent C et al. <i>J Acquir Immune Defic Syndr.</i> 2005; 38: 14-7	Senegal	2NRTI+ PI o NNRTI	12.5	
Vergne L et al. <i>AIDS.</i> 2003; 17: S31-8	Senegal	2NRTI+ PI o NNRTI	16.2 12 nei naive	
Adjè-Tourè AM et al. <i>AIDS.</i> 2003 ; 17: S23-9.	Costa d'Avorio	2NRTI+ PI o NNRTI vs 2NRTI	56 RTI	Maggiore se su 2 NRTI

Nei paesi a risorse limitate le percentuali di frequenza della resistenza per le varie classi nei regimi ARV non sono superiori alle attese

Stefano Rusconi Divisione Clinicizzata di Malattie Infettive, Ospedale Luigi Sacco, Università degli Studi, Milano

Sessione 2 - Mechanism of HIV Resistance

Sessione 3(3) - Resistance to Antiretroviral Drugs and Clinical Implications

Le presentazioni hanno riguardato i meccanismi della resistenza farmacologica di HIV e la resistenza degli inibitori dell'entrata di HIV nella cellula ospite.

Monique Nijhuis del gruppo di C. Boucher, ha illustrato i dati una nuova via biologica in grado di spiegare il fallimento a lopinavir (LPV/r) (*Nijhuis M et al. Abstract 109*). Sono stati identificati nel Db 3 soggetti HIV+ con il profilo di resistenza PRO M46I - L76V e A431V Gag. Il profilo *in vivo* aveva indicato una resistenza fenotipica a LPV/r. La capacità replicativa del mutante L76V era compromessa, ma meno del doppio mutante. L'evoluzione virale si esplicava come 46I → 46I+76V → 46I+76V+431V Gag. La mutazione 76V consente la piena suscettibilità agli altri PI.

Mark Wainberg ha fornito le basi biologiche per lo sviluppo facilitato della mutazione RT K65R nei virus di sottotipo C (*Invernizzi CF et al. Abstract 107*). K65R non solo ristretta a TDF ma anche a ABC/d4T/ddI. La selezione di K65R si verifica più velocemente e frequentemente nel sottotipo C combinata alla mutazione al codone 64 e rappresenta un polimorfismo correlato alla pressione selettiva di N(t)RTI.

V. Svicher ha presentato dati sull'influenza di T-20 nell'indurre mutazioni nella proteina regolatoria rev (*Svicher V et al. Abstract 110*). Tre nuove mutazioni (E57A - L78I -

Il punto sui meccanismi di resistenza di lopinavir e T-20 e le implicazioni cliniche dei nuovi dati di resistenza a maraviroc

N86S) in rev sono associate alla terapia con T-20. E' stata sottolineata l'importanza delle interazioni tra distinte regioni di HIV, e.g. gp41 e rev. Le mutazioni in gp41 indotte da T-20 sono in grado di causare l'evoluzione in rev. Questo *cross-talk* può, quindi, esercitare un'azione di disturbo sulla viremia plasmatica e i livelli di CD4.

M. Lewis e J. Mori (Pfizer) hanno presentato 2 contributi sull'attività di maraviroc negli studi MOTIVATE (Lewis M et al. Abstract 50, Mori J et al. Abstr 51). 36 soggetti hanno presentato un fallimento terapeutico alla 24^a settimana essendo stati classificati come R5-tropici al *baseline* (2 sono emersi come X4-tropici all'analisi clonale durante il trattamento). Tra questi, 15 hanno evidenziato un isolato resistente a MVC al fallimento, in particolare la *maximal percentage inhibition* (MPI) era compresa tra il 15 e il 90% (*cut-off* 95%). Tra i pazienti falliti, solo 4/15 mostravano almeno un farmaco attivo nell'OBT. Sono emerse molteplici delezioni ed inserzioni nel *tip* e *stem* del V3 *loop*, ma non nella base.

Chiara Riva Dipartimento di Scienze Cliniche, Ospedale 'L.Sacco', Università di Milano

Round table 3 - Resistance genotyping and HIV transmission investigation: ethical and legal implication
Sessione 6 - Relation between HIV Variability and Resistance

L'analisi filogenetica può non permettere di dimostrare se la trasmissione dell'infezione virale da HIV è avvenuta realmente tra due individui

Molto interessanti gli spunti emersi dalla tavola rotonda sulla problematica della investigazione forense della trasmissione dell'infezione da HIV e alle sue implicazioni etiche e legali. L'analisi filogenetica, cioè lo studio della relazione genetica tra sequenze di ceppi virali di HIV, è stata infatti utilizzata negli ultimi anni nell'ambito di prosecuzioni criminali come evidenza di responsabilità della trasmissione dell'infezione. In queste indagini, l'opinione esperta di virologi e clinici è stata determinante e di estrema importanza. L'analisi genetica delle sequenze di HIV è, tuttavia, alquanto complessa e i risultati ottenuti dallo studio della loro correlazione non possono raggiungere i livelli di certezza scientifica ottenuti dall'analisi forense del DNA umano. E' possibile, infatti, che i ceppi virali albergati da due soggetti siano altamente simili tra loro ma non necessariamente siano unici in quanto potrebbero essere correlati ad altri soggetti non noti e appartenenti ad una stessa catena di trasmissione.

Un gruppo di virologi clinici (A Vandamme, AM Geretti e J Albert) hanno esposto, alla luce anche della loro esperienza diretta come consulenti tecnici nell'ambito di procedimenti legali, le difficoltà e le considerazioni relative alla conduzione scientifica dei processi di accusa di trasmissione. Hanno sottolineato che per gli scopi forensi l'analisi filogenetica deve essere condotta solo da laboratori certificati, con rilevante esperienza di epidemiologia-molecolare e applicando una rigorosa metodologia. In particolare, la selezione di controlli appropriati da includere nell'analisi genetica è stato uno dei punti fondamentali delle linee guide suggerite e discusse nell'ambito della tavola rotonda. Le sequenze controllo, infatti, devono essere individuate tra i soggetti HIV-positivi che sono epidemiologicamente e temporalmente più vicini alle due parti in investigazione. L'uso di controlli inappropriati potrebbe, erroneamente, aumentare la relazione genetica dei ceppi virali albergati sia dall'accusa sia dalla difesa. Nonostante l'indagine scientifica venga

condotta seguendo rigorosamente le buone pratiche di laboratorio, l'analisi filogenetica può non permettere di dimostrare se la trasmissione dell'infezione virale da HIV è avvenuta realmente tra due individui. Tuttavia, con questa indagine un individuo può essere prosciolto dall'accusa di trasmissione qualora il ceppo virale non risultasse correlato a quello della difesa. In questa sessione scientifica è intervenuto, inoltre, un avvocato inglese che ha seguito numerosi processi di accusa di trasmissione, il quale ha sottolineato che la problematica della criminalizzazione è legata non solo alla trasmissione di HIV ma anche al solo rischio di esposizione ad essa. Soprattutto ha dato rilievo alla necessità e all'importanza della semplificazione e chiarezza nella testimonianza sia scritta che verbale da parte dei periti scientifici nell'ambito della conduzione di questi processi. Infine, la dottoressa Lisa Power, responsabile delle politiche della Terrence Higgins Trust, la più grande fondazione europea di beneficenza, ha esposto i dati aggiornati al 2005 di una sorveglianza condotta in 41 paesi europei, riportando che in almeno 36 di essi la reale o potenziale trasmissione di HIV ha costituito reato e in 21 almeno una persona è stata accusata di trasmissione dell'infezione. Sulla base della sua esperienza e coinvolgimento in quasi 40 processi avvenuti in Inghilterra e Galles negli ultimi 5 anni, la dottoressa Power ha discusso quanto sia importante aiutare giudici e giuria a comprendere il delicato equilibrio tra accusato e accusatore e quanto i pregiudizi e le false assunzioni possano compromettere la rigosità dei processi e influire sull'interpretazione delle evidenze.

Secondo i dati del Terrence Higgins Trust, che si riferiscono alla sorveglianza condotta in 41 paesi europei al 2005, emergono i dati sui reati legati alla reale/potenziale trasmissione di HIV

Mauro Zaccarelli III Divisione, I.N.M.I. "Lazzaro Spallanzani", Roma

Sessione 5 - Interpretation Approaches

L. Bachelier ha mostrato come i *cut-off* clinici di *Virco virtual phenotype* sono stati aggiornati tenendo conto della presenza di misture di virus sensibile/resistente nelle sequenze studiate. Il data-base è stato ampliato e comprende un numero di casi quasi triplicato e con distribuzione diversa: 60% dei casi da *trial* clinici, in precedenza erano soltanto 1/3 del totale. Un'analisi della *German HIV seroconverter cohort* (B. Bartmeyer) valutava l'impatto della resistenza primaria sulla risposta al trattamento. Il trattamento risultava efficace in quanto la resistenza (16%) era quasi sempre costituita da singole mutazioni che non compromettevano la terapia scelta.

Due presentazioni (J. Scherer, D. Hall) hanno proposto l'aggiornamento di TPV *mutation score* con i dati dello Studio RESIST a 48 settimane: 6 mutazioni 47V, 74P, 82L/T, 83D, 58E, 54A/L/V con un alto peso e, quindi, in grado di condizionare la risposta a TPV e 4: 24T, 50L/V, 54L e 76V in grado di conferire ipersusceptibilità. Il TPV *mutation score* era correlato alla risposta più degli *score* che tenevano conto degli altri trattamenti effettuati. Uno studio francese (J.D. Poveda) suggeriva l'utilizzo del test fenotipico nei sottotipi non-B, per identificare resistenza a TPV al posto del genotipo.

Il progetto EuResist (A. Altmann) è un'integrazione di dati clinici e virologici di quattro grosse coorti di pazienti (tra cui ARCA). I dati comprendono circa 18500 pazienti e

Presentato il progetto EuResist di sviluppo di un sistema europeo integrato per la gestione clinica delle resistenze

22000 sequenze. Allo scopo di predire la risposta al trattamento sono stati prodotti 3 "motori" (*engines*) che utilizzano la regressione logistica (uno dei 3 sviluppato in Italia da Mattia Prosperi e Francesca Incardona). La combinazione dei tre motori migliorava la capacità predittiva di un GSS basato sul sistema Stanford. Il servizio EuResist è disponibile gratuitamente in rete da giugno 2008 (www.euresist.org).

Lucia Palmisano Dipartimento del Farmaco, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Sessioni 3(1) e 3(2) - Resistance to Antiretroviral Drugs and Clinical Implications

Diverse le conferme sulla necessità di considerare le mutazioni al basale per i singoli farmaci per la valutazione della barriera genetica di uno schema ARV

In una delle sessioni che hanno affrontato il problema delle implicazioni cliniche della resistenza, A.M. Geretti ha ribadito l'importanza di eseguire i test genotipici prima di iniziare l'HAART, riportando quanto osservato in UK tra oltre 3000 soggetti HIV+: di questi solo il 37%, prima di cominciare la terapia, sono stati sottoposti a test genotipico, che ha rivelato in un caso su 10 la presenza di una mutazione maggiore.

Poiché la probabilità di risposta virologica alla HAART è apparsa associata allo "score genotipico", la conclusione di questo studio è che il test genotipico va eseguito anche nei soggetti *naïve* agli antiretrovirali, e che la scelta della HAART iniziale deve tener conto dei suoi risultati (*Geretti AM, et al. Abstract 40*). Nei soggetti *experienced* la situazione è più complessa: M. Zaccarelli nella sua presentazione ha confermato quanto pubblicato 3 anni fa da ricercatori della British Columbia e cioè che, quando si disegna una terapia di salvataggio, occorre basarsi non solo sui risultati dell'ultimo genotipo, ma considerare anche i test eseguiti nel passato, nei quali possono essere presenti mutazioni archiviate ma che influenzano comunque la risposta ai farmaci (*Abstract 42*). Sempre in tema di resistenze archiviate, questa volta nel DNA provirale, L. Palmisano ha riportato quanto osservato nei pazienti arruolati in uno studio randomizzato sulla terapia intermittente (ISS-PART), nel quale circa il 22% di soggetti con viremia *undetectable* durante HAART ha mutazioni maggiori archiviate nel DNA provirale; questo archivio però non risulta modificato da 2 anni di terapia intermittente, suggerendo che uno schema "on"/"off" come quello del PART non produce un accumulo di mutazioni (*Abstract 44*).

Per quanto riguarda etravirina, l'analisi degli studi DUET ha evidenziato qualcosa di ovvio, ma finora non dimostrato, e cioè che per valutare la barriera genetica di un regime (in questo caso basato sulla combinazione darunavir/etravirina) occorre considerare la combinazione delle mutazioni presenti al *baseline* per i singoli farmaci (*Shapiro JM, et al. Abstract 46*). Studi francesi condotti su un piccolo numero di pazienti trattati nel programma di *expanded access* hanno confermato che Q148K/R/H e N155H sono le mutazioni primarie per raltegravir, che il fallimento virologico può essere associato a una sola di esse, che in uno stesso paziente possono coesistere in genomi diversi e, infine, che le 2 mutazioni possono rapidamente archiviarsi nel DNA provirale. Questo dato appare di interesse, in quanto per altri antiretrovirali l'archiviazione nel DNA si verifica tardivamente, rispetto alla comparsa delle mutazioni nel virus circolante (*Charpetier C, et al. Abstract 48*).

L'importanza dell'Optimized Background Regimen (OBT) per garantire l'efficacia dei nuovi farmaci antiretrovirali

Adriano Lazzarin Dipartimento di Malattie Infettive, IRCCS San Raffaele, Milano

L'arrivo dei nuovi farmaci antiretrovirali di cui si parla ampiamente in questo numero di ReAd Files non ci deve fare dimenticare che la terapia antiretrovirale è costituita da una combinazione di farmaci e che, quindi anche le nuove classi devono essere associate ai *partners* in un'ottica strategica che consideri il percorso terapeutico del paziente nel suo complesso.

Nella nostra esperienza, la scelta dei compagni di viaggio per raltegravir, maraviroc ed etravirina, quando impiegati nei pazienti *multiexperienced* in fallimento, non è sempre stata facile: sono, infatti, necessarie non solo una accurata valutazione dei profili di resistenza per selezionare farmaci ancora efficaci nella circostanza, ma anche una stima dei potenziali vantaggi e svantaggi delle scelte fatte, alla luce delle possibili ricadute sulle condotte terapeutiche che seguiranno.

Gli studi registrativi e la pratica clinica hanno messo in evidenza l'importante ruolo avuto dagli inibitori delle proteasi (con il *boosting* di ritonavir) quando presenti nel regime di *background* nel sostenere l'efficacia di etravirina, raltegravir e maraviroc. I risultati sono stati particolarmente favorevoli nei casi in cui, come nei DUET *trial*, il nuovo farmaco (etravirina) veniva associato costantemente ad un *boosted* PI (darunavir) con conservata attività antiretrovirale.

La scelta non sempre è così semplice e scontata, come nel caso dello studio sopracitato, e lo specialista deve cominciare a pianificare l'uso di una classe di farmaci come i PI/r considerandone le potenzialità nelle varie fasi del trattamento antiretrovirale.

Un primo spunto di riflessione è rappresentato dalla necessità o meno di mantenere nella cART dei pazienti multifalliti un *back-bone* di nucleosidici, considerando che di regola si trovano ceppi resistenti o con ridotta sensibilità ai NUC, oppure se è più corretto optare per una "base" di terapia con PI/r (grazie al polimorfismo delle mutazioni nel loro dominio mantengono spesso una efficacia residua) e, su quella, costruire una triplice combinazione che comprenda uno o due dei nuovi antiretrovirali sopracitati.

Va ricordato a questo proposito che per maraviroc si può usare la dose più bassa indicata dalla scheda tecnica (150 mg BID) quando viene associato ad un PI con la *baby* dose di ritonavir.

Gli studi condotti negli ultimi anni hanno dimostrato (a partire dai TORO *trial*) che la presenza di un *boosted* PI (in questo caso lopinavir/ritonavir) tra i farmaci attivi dell'OBT aumentava le percentuali di successo.

A mio parere questi dati forniscono una

La presenza di un *boosted* PI (come lopinavir/r) tra i farmaci attivi dell'OBT aumenta le percentuali di successo e per le peculiari caratteristiche farmacocinetiche e di efficacia, garantisce il salvataggio di opzioni terapeutiche

Oltre al vantaggio di guadagno immunologico, l'uso dei PI/r garantisce un trattamento a lungo termine sulla base di alcune considerazioni come l'alta *forgiveness*, la convenienza delle dosi fisse, la mancanza di restrizioni

scontata indicazione a privilegiare la scelta di un farmaco ancora attivo con alta barriera genetica e dovrebbero orientare a pianificare una linea di condotta finalizzata all'uso di farmaci che per le peculiari caratteristiche farmacocinetiche e di efficacia, garantiscono il salvataggio di opzioni terapeutiche (SOD) all'interno della classe di appartenenza e non. Già dalle prime fasi del trattamento sarebbe possibile mantenere opzioni che possano costituire la base dell'"*holding regimen*" da associare ai nuovi farmaci in modo continuativo e duraturo (sotto questo aspetto, la numerosità e le caratteristiche degli inibitori delle proteasi ne faranno dei sicuri protagonisti).

I vantaggi aggiuntivi di un OBT centrato sugli inibitori delle proteasi sono la loro potenziale superiorità nel determinare un aumento dei CD4 rispetto agli inibitori della trascrittasi inversa e la possibilità di consentire un *wash out* che riduca in misura consistente le tossicità specifiche di quest'ultima classe di farmaci.

Lo scenario in cui fare calare questi principi va immaginato anche al di fuori delle situazioni di *deep rescue* poichè sia maraviroc che raltegravir possono essere impiegati, in caso di fallimento, anche in linee antecedenti di trattamento antiretrovirale e perciò l'uso in sequenza dei PI/r va programmato non solo in base al loro profilo di resistenza, ma anche nel rispetto dei requisiti necessari per garantire un trattamento a lungo termine (alta *forgiveness*, *convenience* delle

fixed-doses combinations, no *food restrictions* o *refrigeration*).

Mancando al momento informazioni definitive sulla tollerabilità a lungo termine e contando sulle peculiarità degli antiretrovirali di questa ultima generazione (potenza ed immunoricostruzione), anche dopo un cambio di terapia dovuto a fallimento virologico, si possono cominciare ad ipotizzare schemi di induzione/mantenimento privilegiando, laddove possibile, farmaci (come lopinavir/ritonavir FDC) che consentano lo *switch* verso la *dual* o la *mono therapy*.

Non va dimenticata la necessità di controllare la replicazione del virus all'interno dei *reservoir*e, se raltegravir e soprattutto maraviroc sembrano in grado di garantire una particolare efficacia nel controllo della replicazione di HIV nel tessuto linfatico grazie al loro meccanismo d'azione, poche informazioni si hanno sulla loro capacità di superare la barriera ematoencefalica, pertanto uno dei criteri di scelta del PI/r da inserire nello schema dovrà essere un elevato *Charter score*.

Infine, una considerazione sull'impatto di questi nuovi *cocktail* terapeutici sui costi: il ruolo dei PI *boosted* quali compagni di viaggio delle nuove classi può rappresentare anche un elemento positivo sulle economie di trattamento infatti, alcuni PI hanno costi in linea, e talvolta inferiori, ai *backbone* di 2 NUC di più corrente impiego.

Gli inibitori del CCR5 nella pratica clinica: maraviroc

Giuseppe Tambussi Dipartimento di Malattie Infettive e Tropicali, IRCCS San Raffaele, Milano

HIV infetta le cellule mediante l'interazione consecutiva della glicoproteina gp120 localizzata sull' *envelope* con due recettori cellulari: CD4 e un recettore per le chemochine (o corecettore) come CCR5 o CXCR4. Questa particolare strategia interattiva a due step permette a gp120 di mantenere la regione molto conservata, cioè a dire presente su tutti i ceppi virali, ed il legame virus-corecettori al riparo da anticorpi neutralizzanti (**Figura 1**).

La deduzione della necessità di un corecettore per l'ingresso di HIV-1 origina dall'evidenza sperimentale che l'espressione di CD4 non è sufficiente per spiegare la differenza nel tropismo virale per le cellule target *in vitro*. Esperimenti concernenti il distinto tropismo *in vitro* di isolati virali per differenti cellule bersaglio CD4+ umane hanno evidenziato la presenza di due ceppi virali fondamentali:

- TCL-tropic, sincizio-inducenti, molto efficienti nell'infettare linee T cellulari
- M-tropic, non sincizio-inducenti, molto efficienti nell'infettare i macrofagi primari.

In base all'affinità per i differenti corecettori, sono state successivamente definite tre differenti varianti biologiche del virus (R5, R5X4, X4), la cui prevalenza durante il decorso dell'infezione subisce delle variazioni. Una conferma dell'importanza del CCR5 quale determinante di infezione da parte dei ceppi virali M-tropici deriva dall'identificazione di una mutazione a carico di un allele del corecettore denominata $\Delta 32$, che ha un effetto protettivo nei confronti del-

l'infezione da parte di HIV-, nel caso di soggetti omozigoti.

I ceppi R5, replicanti nelle cellule T attivate di memoria, particolarmente abbondanti nel GALT (*Gut Associated Lymphoid Tissue*) oggi riconosciuto quale sito primitivo di replicazione di HIV e SIV (*Simian Immunodeficiency Virus*), predominano durante la lunga fase asintomatica dell'infezione e sono ritenuti responsabili della trasmissione. I ceppi X4 emergono in uno stadio avanzato di malattia e riconoscono un più vasto target cellulare tra cui le cellule T naive e quiescenti e i precursori timici.

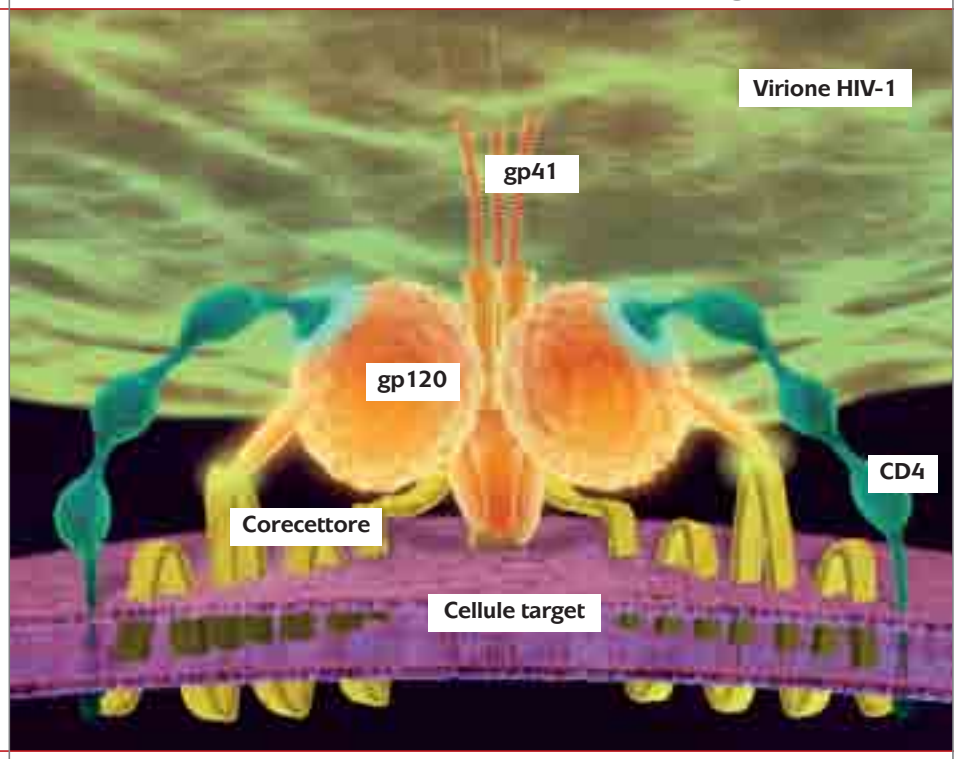
I recettori per le chemochine sono pertanto attraenti target di terapia antiretrovirale in quanto evolutivamente molto conservati; inoltre, il fatto che non siano stati riscontrati casi di infezione corecettore-indipendente suggerisce che il loro legame con gp120 sia uno step ineludibile da parte del virus.

L'unico inibitore del CCR5 disponibile attualmente nella pratica clinica è maraviroc. Scoperto e sviluppato dai ricercatori Pfizer del centro di ricerche di Sandwich in Gran Bretagna, maraviroc è stato registrato in Italia all'inizio del 2008 ed è attualmente disponibile per i pazienti resistenti che abbiano un virus che utilizzi il corecettore CCR5 (CCR5-tropici).

Per determinare il tipo di tropismo è indispensabile eseguire un test diagnostico specifico, chiamato Trofile. I pazienti possono rivolgersi al centro ospedaliero presso cui sono in cura e, di concerto con il proprio me-

Lo sviluppo clinico di maraviroc genera dall'evidenza che il legame corecettori e gp120 è indispensabile ad HIV per infettare le cellule

Figura 1 Ingresso di HIV nella cellula target: al legame di gp120 al CD4 segue la sua interazione con il corecettore, infine gp41 media la fusione della membrana del virione con quello della cellula-bersaglio



Gli studi clinici hanno evidenziato l'elevata efficacia viro-immunologica di maraviroc in presenza di almeno un farmaco attivo nell'OBT

Resistenza e Adesione alle terapie nella cura dell'AIDS

dico curante, inviare un campione di sangue alla Monogram Biosciences a San Francisco, in California, dove verrà eseguito il test, al momento l'unico validato clinicamente negli studi registrativi per la determinazione del tropismo virale. A tal riguardo, i risultati degli studi Motivate 1 e 2, in cui uno dei criteri di inclusione era la presenza di un virus CCR5-tropico, hanno evidenziato che la percentuale di pazienti con carica virale non rilevabile (<50 copie/ml) alla 48^a settimana è risultata più che doppia nei pazienti trattati con maraviroc + OBT rispetto a quelli del braccio OBT + placebo: rispettivamente 46% vs 17% (p<0,0001). Inoltre, l'incremento medio della conta delle cellule CD4+ alla 48^a settimana è risultato due volte più grande nei pazienti trattati con maraviroc + OBT rispetto a quelli del braccio OBT + placebo:

rispettivamente +124 vs +63 cellule CD4+ (p<0,0001). In una recente metanalisi di 16 *trial* clinici, presentata al CROI 2008, è stato evidenziato che, nei bracci di trattamento che comprendevano un CCR5-antagonista (maraviroc e vicriviroc) c'è stato un incremento aggiuntivo di +32 cellule CD4+, alla 24^a settimana, rispetto all'incremento riscontrato negli altri bracci di trattamento con farmaci delle altre classi. Questi dati, prospettano interessanti sviluppi nell'utilizzo di maraviroc e degli antagonisti del CCR5 in generale. Maraviroc rappresenta un notevole passo avanti nella ricerca di una terapia sempre più efficace dell'infezione da HIV. Infatti non si tratta di un farmaco nuovo di una vecchia classe (inibitori nucleosidici/tidici o non nucleosidici della trascrittasi, inibitori delle proteasi), nei confronti della quale i pazienti

hanno già sviluppato una resistenza, anche se parziale, ma è il capostipite di una classe di farmaci completamente nuova. La sua introduzione, nell'armamentario terapeutico dello specialista in malattie infettive, può rompere il paradigma classico della terapia antiretrovirale, cioè l'abbinamento di un cosiddetto *backbone* (due farmaci nucleosidici/tidici) e di un terzo farmaco (inibitore della proteasi o inibitore non nucleosidico della trascrittasi inversa). Al momento, ma-

raviroc può essere inserito nella combinazione terapeutica in aggiunta o al posto di questo terzo farmaco, ma in prospettiva si candida anche a sostituire il *backbone* nucleosidico/tidico. È possibile prefigurare un effetto positivo non solo da un punto di vista dell'efficacia virologica per sé, ma anche una sostanziale riduzione dei molteplici effetti collaterali e tossici della terapia legati, in gran parte, proprio all'azione dei farmaci inibitori della trascrittasi.

Maraviroc è il capostipite di una classe di farmaci completamente nuova che in prospettiva si candida a sostituire anche il *backbone* nella HAART

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. **Berger EA, Murphy PM, Farber JM.** Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism, and disease. *Annu Rev Immunol* 1999;17:657-700.
2. **Biswas P, Tambussi G, Lazzarin A.** Access denied? The status of co-receptor inhibition to counter HIV Entry. *Expert Opin Pharmacother* 2007; 8: 923-933.
3. **Cocchi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, Cara A, Gallo RC, Lusso P.** The V3 domain of the HIV-1 gp120 envelope glycoprotein is critical for chemokine-mediated blockade of infection. *Nat Med* 1996;2(11):1244-7.
4. **Dragic T.** An overview of the determinants of CCR5 and CXCR4 co-receptor function. *J Gen Virol* 2001;82(Pt 8):1807-14.
5. **Estè A J, Telenti A.** HIV entry inhibitors. *Lancet* 2007; 370: 81-88.
6. **Fatkenheuer G, Pozniak AL, Johnson MA, Plettenberg A, Staszewski S, Hoepelman AI, et al.** Efficacy of short-term monotherapy with maraviroc, a new CCR5 antagonist, in patients infected with HIV-1. *Nat Med* 2005;11(11):1170-2.
7. **Harouse JM, Buckner C, Gettie A, Fuller R, Bohm R, Blanchard J, et al.** CD8+ T cell-mediated CXC chemokine receptor 4-simian/human immunodeficiency virus suppression in dually infected rhesus macaques. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(19):10977-82.
8. **Labrijn AF, Poignard P, Raja A, Zwick MB, Delgado K, Franti M, et al.** Access of antibody molecules to the conserved coreceptor binding site on glycoprotein gp120 is sterically restricted on primary human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 2003;77(19):10557-65.
9. **Lusso P, Earl PL, Sironi F, Santoro F, Ripamonti C, Scarlatti G, et al.** Cryptic nature of a conserved, CD4-inducible V3 loop neutralization epitope in the native envelope glycoprotein oligomer of CCR5-restricted, but not CXCR4-using, primary human immunodeficiency virus type 1 strains. *J Virol* 2005;79(11):6957-68.
10. **Lusso P.** HIV and the chemokine system: 10 years later. *Embo J* 2006;25(3):447-56.
11. **Stebbing J, Gazzard B, Douek DC.** Where does HIV live? *N Engl J Med* 2004;350(18):1872-80. Wilkin et al The relationship of CCR5 inhibitors to CD4+ cell count change: a meta-analysis of recent clinical backgrounds in treatment experienced subjects. *Poster 800. CROI 2008*

Farmacocinetica delle diverse posologie di TMC 114

Andrea Calcagno Clinica delle Malattie Infettive, Università di Torino

La buona tollerabilità dimostrata dal farmaco e la non evidente relazione dose-tossicità consentono una personalizzazione del dosaggio in pazienti particolari o con terapie molto complesse

TMC 114 (principio attivo darunavir) è un nuovo e potente inibitore della proteasi; il dosaggio ad oggi approvato è di 600mg (due compresse da 300mg) con 100mg di ritonavir bid.

La farmacocinetica indaga la relazione tra somministrazione di un farmaco e la sua concentrazione nei vari compartimenti corporei. La concentrazione plasmatica di un farmaco somministrato per via orale, dopo aver raggiunto il picco massimo (C_{max}), diminuisce gradualmente per i processi di metabolismo ed eliminazione, fino a raggiungere il valore minimo (C_{min}); generalmente questa coincide con la C_{trough} (o concentrazione di valle), ovvero la concentrazione al tempo in cui è necessario assumere la dose successiva. Inoltre una quota variabile di farmaco presente in circolo è legata alle proteine plasmatiche (albumina e α 1-glicoproteina acida) ed è pertanto inattiva dal punto di vista farmacologico e farmacodinamico. Per emivita si intende, quindi, il tempo necessario a raggiungere la metà della C_{max}: tanto più grande è questo valore, tanto più a lungo il farmaco permane ed è efficace nel compartimento studiato. In una terapia a lunghissimo termine come quella antiretrovirale il mantenimento di adeguati livelli plasmatici è un fattore fondamentale per l'efficacia: il valore minimo raggiunto da un farmaco al termine dell'intervallo tra le dosi si ritiene essere un parametro strettamente correlato all'esposizione plasmatica e quindi all'attività dei farmaci antiretrovirali. Uno dei fattori che influenzano il risultato è però il virus stesso:

specie virali contenenti mutazioni associate a resistenza necessitano di concentrazioni più elevate perchè ne venga inibita la replicazione. La concentrazione necessaria ad inibire il 90% delle specie circolanti (IC₉₀) è dunque molto differente in un virus wild-type rispetto ad uno mutato, per cui si ipotizzano formulazioni differenti a seconda della storia farmacologica del paziente.

Darunavir è rapidamente assorbito a livello gastroenterico e raggiunge la C_{max} nel plasma dopo 2.5-4 ore dalla somministrazione delle capsule (1-3); l'assunzione a stomaco pieno ne aumenta la biodisponibilità (di circa il 30%) ed è, quindi, consigliata. Viene dunque rapidamente distribuito nel comparto ematico legato, per circa il 95%, alle proteine plasmatiche (soprattutto all' α 1-glicoproteina-acida). Segue una fase di eliminazione lenta con un'emivita di circa 15 ore se co-somministrato con basse dosi di ritonavir (che ne aumenta altresì la biodisponibilità dal 37 all'84%). Il metabolismo di primo passaggio è quasi totalmente inibito dalla co-somministrazione di ritonavir e non vi sono significativi aumenti di concentrazione di darunavir all'aumentare la dose del *boosting*. Il metabolismo di questa sostanza è principalmente effettuato dagli enzimi del citocromo P450, isoenzima 3A4: le interazioni ad oggi note derivano sostanzialmente dall'influenza su questa famiglia di proteine. La molecola e i suoi metaboliti sono escreti nelle feci (79.5%) ed in piccola parte nelle urine (13.9%).

La lunga emivita plasmatica di darunavir ne

consente la somministrazione una volta al giorno riducendo numero di compresse e aumentandone la semplicità di assunzione. Uno studio recente (4) (ARTEMIS) ha dimostrato, in pazienti *naive*, la non inferiorità di darunavir (800mg con 100mg di ritonavir) una volta al giorno nei confronti di lopinavir/r e una migliore tollerabilità; nei pazienti con carica virale >100.000 copie/ml si è altresì osservato un più elevato tasso di risposta virologica (79% vs. 67%).

Analisi di farmacocinetica (5) hanno dimostrato che la somministrazione *once-a-day* consente di ottenere concentrazioni plasmatiche di TMC 114 superiori alla MIC. In particolare, nei soggetti che assumevano i dosaggi studiati, ovvero 400/100, 800/100 e 1200/100 qd le concentrazioni minime si sono dimostrate essere rispettivamente di 637, 1047 e 1548ng/ml ben al di sopra delle EC50 (valutata essere di 55ng/ml); tali valori risultavano, però, inferiori a quelli ottenuti con la somministrazione suddivisa (400/100 e 600/100 bid: 1848 e 2893ng/ml) consentendone, quindi, l'impiego nei pazienti *naive* o nelle prime linee di trattamento.

I differenti dosaggi di TMC 114 devono inol-

tre tenere conto delle interazioni note o possibili con altri farmaci: risorse internet come quella dell'Università di Liverpool (www.hiv-druginteractions.org) possono essere di grande aiuto nella gestione di tali eventi. Sebbene non siano ad oggi raccomandate modificazioni di dosaggio, vi sono alcune associazioni sconsigliate, a prescindere dalla dose assunta, quali ad esempio quella con lopinavir e con saquinavir. Sono, invece, suggerite modificazioni della posologia di alcuni farmaci concomitanti tra cui maraviroc (150mg bid), atorvastatina, pravastatina e sildenafil (la minima dose efficace e lo stretto monitoraggio) e, a seconda della risposta individuale, di metadone.

In conclusione, la buona tollerabilità dimostrata dal farmaco e la non evidente relazione dose-tossicità consentono una personalizzazione del dosaggio in pazienti particolari o con terapie molto complesse: la recente segnalazione (anche se tuttora dibattuta) (6-8) da parte di diversi gruppi di ricerca di una relazione concentrazione-efficacia apre la strada a stimolanti speculazioni sulla dose adeguata nel paziente estremamente pluritrat-

La recente segnalazione (anche se tuttora dibattuta) da parte di diversi gruppi di ricerca di una relazione concentrazione-efficacia apre la strada a stimolanti speculazioni sulla dose adeguata nel paziente estremamente pluritrat-

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. **Hoetelmans R, Van der Sandt I, De Pauw M, et al.** TMC114, A Next Generation HIV Protease Inhibitor: Pharmacokinetics and Safety Following Oral Administration of Multiple Doses With and Without Low Doses of Ritonavir in Healthy Volunteers. *Poster 549. 10th CROI. 10-14, February, 2003. Boston, MA, USA.*
2. **Sekar V, De Paep E E, Van Baelen B, et al.** Effect of extrinsic and intrinsic factors on the pharmacokinetics of darunavir/ritonavir (DRV/r) in HIV-1 patients: results of a randomised, controlled, Phase III study (TITAN). *16th IAC. 2006. Abstract TUPE0083.*
3. **Sekar V, Guzman S, Stevens T, et al.** Absolute bioavailability of TMC114, administered in the absence and presence of low-dose ritonavir. *Poster P86. 6th IWCPHT. 20-22, April, 2006. Lisbon, Portugal.*
4. **Ortiz R, DeJesus E, Omayoon K et al.** Efficacy and Safety of once-daily darunavir/ritonavir versus lopinavir/ritonavir in treatment-naïve HIV-1-infected patients at week 48. *AIDS, 22 (12): 1389-1397.*
5. **Boffito M, Boyle G, Hill A et al.** The pharmacokinetic (PK) profile of darunavir with low-dose ritonavir (DRV/r) in various multiple-dose regimens over 120 hours. *9th IWCPHT. 7-9 April, 2008. New Orleans, LA, USA.*
6. **Moltó J, Santos JR, Pérez-Álvarez N et al.** Inhibitory Quotient as a Predictor of Virological Response to Darunavir-Based Salvage Regimens. *Poster 768. 15th CROI. 3-6 February 2008. Boston, MA, USA.*
7. **Sekar V, Vanden Abeele C, Van Baelen B, et al.** Pharmacokinetic-pharmacodynamic analyses of once-daily darunavir in the ARTEMIS study. *Poster 769. 15th CROI. 3-6 February 2008, Boston, MA, USA.*
8. **Gonzalez de Requena D, Bonora S, Cometto C, et al.** Effect of Darunavir (DRV) genotypic inhibitory quotient (gIQ) on the virological response to DRV-containing salvage regimens at 24 weeks. *9th IWCPHT. 7-9 April, 2008, New Orleans, LA, USA.*

Faculty

direttore scientifico

M. Moroni, Milano

direttore responsabile

F. Tacconi

Effetti srl, via Gallarate, 106

20151 Milano

tel. 02.3343281

comitato di redazione

A. Antinori, Roma

C. Balotta, Milano

S. Bonora, Torino

A. Castagna, Milano

F. Maggiolo, Bergamo

L. Meroni, Milano

L. Monno, Bari

C. Mussini, Modena

L. Palmisano, Roma

S. Rusconi, Milano

comitato scientifico

M. Andreoni, Roma

G. Angarano, Foggia

A. Antinori, Roma

S. Antinori, Milano

C. Balotta, Milano

S. Bonora, Torino

C. Boucher, Utrecht (NL)

L. Calza, Bologna

A. Cargnel, Milano

G. Carosi, Brescia

A. Castagna, Milano

R. Cauda, Roma

M. Clementi, Milano

R.T. D'Aquila, Nashville (USA)

A. d'Arminio Monforte, Milano

A. De Luca, Roma

A. De Rossi, Padova

F. Dianzani, Roma

G. Di Perri, Torino

R. Esposito, Modena

G. Filice, Pavia

M. Galli, Milano

J. Gatell, Barcellona (ES)

C. Giaquinto, Padova

G. Ippolito, Roma

C. Katlama, Parigi (FR)

D.R. Kuritzkes, Boston (USA)

J. Lange, Amsterdam (NL)

B. Larder, Cambridge (UK)

A. Lazzarin, Milano

S. Lo Caputo, Firenze

F. Maggiolo, Bergamo

F. Mazzotta, Firenze

L. Meroni, Milano

L. Minoli, Pavia

L. Monno, Bari

J.S.G. Montaner, Vancouver (CA)

C. Mussini, Modena

L. Palmisano, Roma

C.F. Perno, Roma

M.B. Regazzi, Pavia

G. Rezza, Roma

D.D. Richman, San Diego (USA)

S. Rusconi, Milano

F. Starace, Roma

F. Suter, Bergamo

C. Torti, Brescia

L. Valera, Milano

S. Vella, Roma

V. Vullo, Roma

M. Zazzi, Siena

Norme per gli Autori

Gli articoli, di lunghezza massima di 5.500 battute, corredati da elementi iconografici e dai riferimenti bibliografici essenziali (massimo 10), dovranno essere inviati esclusivamente via e-mail, alla Redazione di **ReAd files** a Claudia Balotta o a Luca Meroni (readfiles@effetti.it).

Il Comitato di Redazione si riserva di valutarne la pubblicazione sulla testata.

ReAdfiles

Resistenza e Adesione alle terapie nella cura dell'AIDS

MAJOR SPONSOR:



We Innovate Healthcare

ALTRI SPONSOR:

Boehringer Ingelheim