



*Università degli Studi di Padova*  
*Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia*  
*Dipartimento di Medicina Molecolare*  
*Direttore: Prof. Stefano Piccolo*  
*Cattedra di Malattie Infettive*  
*Direttore: Prof. Saverio Parisi*

*TESI DI LAUREA*

Efficacia di una semplificazione con una terapia a due farmaci in soggetti con infezione da HIV ed in soppressione virologica valutata in una coorte seguita dal 1° gennaio 2016 al 31 gennaio 2023, ruolo dell'archivio di DNA provirale e valutazione per un passaggio a terapia long-acting.

Relatore: Prof. Saverio Parisi

Laureando: Ludovico Manzato  
Anno accademico 2022/2023

## INDICE

<b>INTRODUZIONE:</b> .....	<b>3</b>
<b>1. L'HIV</b> .....	<b>3</b>
<b>1.1 Struttura, replicazione e patogenesi</b> .....	<b>3</b>
<b>1.2 Meccanismi di escape dal sistema immunitario</b> .....	<b>5</b>
<b>2. Epidemiologia</b> .....	<b>6</b>
<b>3. Decorso clinico</b> .....	<b>8</b>
<b>3.1 HIV e stato pro-infiammatorio</b> .....	<b>9</b>
<b>3.2 Co-infezione con HBV e HCV</b> .....	<b>10</b>
<b>3.3 Ruolo dell'archivio di DNA provirale</b> .....	<b>11</b>
<b>4. Monitoraggio laboratoristico dell'infezione da HIV</b> .....	<b>12</b>
<b>4.1 Screening e Diagnosi</b> .....	<b>12</b>
<b>5. Trattamento</b> .....	<b>13</b>
<b>5.1 Classi farmacologiche e farmaci ARV</b> .....	<b>14</b>
<b>5.2 Monitoraggio del paziente in cART</b> .....	<b>20</b>
<b>5.3 Trattamento dei pazienti con infezione da HIV cronica in assenza di esposizione a terapie ART</b> .....	<b>21</b>
<b>5.4 Strategie per la modificazione del regime terapeutico nei pazienti in soppressione virologica</b> .....	<b>24</b>
<b>5.5 Gestione delle risposte virologiche non ottimali</b> .....	<b>25</b>
<b>5.6 PrEP e PEP</b> .....	<b>26</b>
<b>5.7 Trattamento coinfezione con HBV e HCV</b> .....	<b>27</b>
<b>5.8 Descrizione e gestione delle comorbidità in relazione alla terapia antiretrovirale</b> .....	<b>28</b>
<b>5.9 Semplificazione</b> .....	<b>34</b>
<b>6. Possibili criticità dei regimi 2DR e Research Gap Areas</b> .....	<b>39</b>
<b>7. Terapia Long-acting</b> .....	<b>42</b>
<b>8. Monoterapie</b> .....	<b>43</b>
<b>9. Single-Tablet-Regimen (STR)</b> .....	<b>44</b>
<b>10. Altre opzioni terapeutiche, sguardo al futuro</b> .....	<b>44</b>
<b>SCOPO DELLO STUDIO</b> .....	<b>47</b>
<b>MATERIALI E METODI</b> .....	<b>48</b>
<b>RISULTATI:</b> .....	<b>49</b>
<b>CONCLUSIONE</b> .....	<b>74</b>
<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>76</b>
<b>RINGRAZIAMENTI</b> .....	<b>87</b>

## RIASSUNTO

*Presupposti dello studio.* Negli anni nuovi principi attivi e nuove classi farmacologiche hanno garantito un controllo dell'infezione cronica da HIV sempre migliore, portando l'aspettativa di vita dei PLWH ad un'età approssimabile a quella della popolazione generale.

Si è reso necessario, per terapie di così lunga durata, sviluppare strategie per migliorare la qualità di vita di questi soggetti, per ridurre le interazioni farmacologiche, gli effetti avversi, per ottenere un minor impatto dei farmaci sulle comorbidità pre-esistenti, per ridurre i costi e per migliorare la compliance e dunque il controllo virologico a lungo termine.

Varie strategie di semplificazione sono state messe a punto grazie a numerosi studi scientifici. La semplificazione a due farmaci, a tal proposito, ha dimostrato affidabilità, efficacia e sicurezza rispetto ai regimi tradizionali, sia in pazienti *naïve-to-treatment* sia in pazienti *treatment-experienced*.

*Scopo dello studio.* Il presente studio ha come obiettivo primario quello di valutare l'efficacia della semplificazione terapeutica ad un regime a due farmaci in una corte di pazienti seguiti dal 1° gennaio 2016 al 31 gennaio 2023 presso gli ambulatori della U.O.C. di Malattie Infettive dell'ospedale San Bortolo di Vicenza. L'obiettivo secondario è di valutare il ruolo del DNA provirale nel controllo virologico.

*Materiali e metodi.* Utilizzando le cartelle cliniche dei pazienti in studio, si sono raccolti appropriati dati in momenti differenti ovvero prima della semplificazione, allo switch, a 12 e 24 mesi di follow-up. Opportune analisi sono state poi condotte ed i risultati sono stati confrontati con quelli della letteratura scientifica.

*Risultati.* I regimi di duplice terapia somministrati, in vari sottogruppi di pazienti individuati in base alla terapia assunta ed ai parametri virali ed immunologici, hanno dimostrato un'efficacia nel controllo virologico superiore al 90% a 12 ed a 24 mesi. Un incremento statisticamente significativo nel valore assoluto dei linfociti CD4+ si è inoltre notato, dopo 24 mesi di follow-up, sia nei pazienti con viremia non rilevabile che inferiore alle 40 copie/mL al momento della semplificazione. Bassi livelli di HIV-DNA su PBMCs sono risultati correlati a miglior controllo virologico.

*Conclusioni.* I diversi regimi terapeutici somministrati si sono dimostrati efficaci nel controllo virologico ed immunologico a 12 ed a 24 mesi nei pazienti studiati, in linea con le attuali conoscenze scientifiche.

## ABSTRACT

*Background.* Over the years, new drugs and pharmacological classes have ensured a better control of chronic HIV infection, bringing the life expectancy of PLWHs to an age approaching that of the general population.

For these long-life therapies, it has been necessary to develop new strategies to improve the quality of life of these subjects, to reduce drug-drugs interactions, adverse effects, to obtain a lower impact of HAART on pre-existing comorbidities, to reduce overall costs and to improve patients' compliance and thus long-term virological control.

Various simplification strategies have been developed thanks to numerous scientific studies.

The simplification toward a two drugs regimen, in this regard, has demonstrated reliability, efficacy and safety compared to traditional regimens, both in naïve-to-treatment patients and in treatment-experienced patients.

*Purpose of the study.* The primary objective of the present study is to evaluate the efficacy of a therapeutic simplification to a two-drug regimen in a cohort of patients followed from 1 January 2016 to 31 January 2023 at the Infectious Diseases' outpatient units of the San Bortolo hospital in Vicenza. The secondary objective is to evaluate the role of proviral DNA in virological control.

*Methods.* Using the clinical records of the participants, appropriate data were collected at different time points: before simplification, at the therapeutical switch, and after 12 and 24 months of follow-up. Appropriate analyses were conducted and the results were compared with those of the scientific literature.

*Results.* The dual therapy regimens administered, in various subgroups of patients identified on the basis of the assigned therapy and the viral and immunological values, have shown an efficacy, in terms of virological control, of more than 90% at 12 and 24 months. A statistically significant increase in the absolute value of CD4+ lymphocytes was also noted, after 24 months of follow-up, both in patients with undetectable and less than 40 copies/mL viraemia at the time of simplification. Low levels of HIV-DNA on PBMCs correlated with better virological control.

*Conclusions.* The different therapeutic regimens administered proved effective in virological and immunological control at 12 and 24 months in the patients studied, in line with current scientific knowledge.

## INTRODUZIONE:

### 1. L'HIV

#### 1.1 Struttura, replicazione e patogenesi.

Il virus dell'HIV (Human Immunodeficiency Virus), isolato per la prima volta nel 1983 all'istituto Pasteur di Parigi dal gruppo di ricerca del virologo Luc Montagnier, è il più importante e studiato retrovirus ed appartiene al genere dei *lentivirus*, genere che comprende due retrovirus (HIV-1 e HIV-2), con circa il 60% di sequenze geniche conservate e dotati di proteine virali talvolta differenti, talvolta simili, associati a disturbi neurologici e ad una progressiva immunosoppressione. La membrana del virione di HIV è composta dalla membrana plasmatica della cellula ospite nel quale il virus si è replicato e presenta sulla sua superficie esterna delle glicoproteine ampiamente glicosilate, necessarie al legame con il rispettivo recettore ed alla fusione con la membrana della cellula ospite. Il virione contiene al suo interno due copie di materiale genetico a RNA positivo, che contengono tre geni maggiori (*gag*, *pol*, *env*), decine di copie di retrotrascrittasi inversa (RT), diverse copie della proteina integrasi, due tRNA che la RT necessita come primers ed ovviamente delle componenti citoplasmatiche della cellula ospite. Esistono quattro diversi genotipi di HIV-1, il genotipo M, *Main*, che risulta essere il più frequente ed i genotipi N, O e P. Il genotipo M presenta undici sottotipi descritti con una lettera maiuscola dalla lettera A alla lettera K: tali distinzioni si basano sull'analisi delle sequenze genetiche di *env* e *gag* e si riflettono dunque sull'antigenicità della glicoproteina gp120 e delle proteine del capsido virale. L'infezione ha inizio con il legame della glicoproteina gp120 con il suo recettore CD4 espresso in diversi citotipi, ma necessita anche del legame del complesso ad un co-recettore (CCR5, nella fase M-tropica del virus) ovvero una proteina a sette domini transmembrana che svolge la funzione di recettore specifico di alcune chemochine. Il co-recettore CCR5 è espresso in diversi citotipi esprimenti CD4, tra cui cellule mieloidi, cellule attivate, cellule della memoria, cellule intestinali del tessuto linfoide associato alla mucosa e macrofagi. Più avanti nell'infezione il gene *env* subirà delle mutazioni, a causa della RT decisamente *errore prone*, che modificheranno l'affinità della glicoproteina *p120* per il co-recettore, prediligendo il legame con *CXCR4* (fase del virus T-tropica) che si riscontra classicamente nelle cellule T CD4+ *naïve, resting*, nelle cellule CD8+, nei linfociti B ma anche nei neutrofili e negli eosinofili. La gp120 può anche legarsi ad altri recettori o molecole d'adesione, come *VLA-4* ed *DC-SIGN*, permettendo quindi l'infezione di citotipi differenti quali le cellule dendritiche. Una volta avuto accesso al citosol la RT sintetizza il DNA negativo complementare al filamento di RNA positivo: successivamente agisce da *ribonucleasi H* per

degradare il filamento di RNA positivo e sintetizzare al suo posto il filamento di DNA positivo corrispondente, formando quindi un filamento di DNA completo, *cDNA* (provirus) che può accedere al nucleo liberamente attraverso i pori nucleari. In tale processo vengono duplicate svariate volte le sequenze 3' e 5' terminali dello stampo originale di RNA positivo, e si creano così delle sequenze *LTR* contenenti dei promotori e degli enhancers, importanti per assicurare la trascrizione del genoma virale integrato in risposta a stimoli infiammatori di varia natura: la replicazione di HIV è infatti dipendente sia dal tasso di replicazione cellulare sia dal grado di metilazione del DNA virale. Una volta integrato, il DNA provirale, viene processato dalla *RNA polimerasi II* cellulare, ed i prodotti che ne derivano necessitano di complessi sistemi di *splicing* differenziati in *early* e *late phase* nel corso dell'infezione. I prodotti del gene *env* sono necessari per la produzione delle glicoproteine *gp120* e *gp41*, i prodotti del gene *pol* sono necessari per la sintesi delle polimerasi (RT, Proteasi ed Integrasi), i prodotti di *gag* sono infine necessari per la produzione delle proteine del core e del capsid virale.

Nella tabella qui accanto (1) sono illustrate le funzioni dei principali prodotti genici di HIV.

I prodotti *Gag* e *Gag-pol* vengono acilati, poi legati alla membrana plasmatica contenente la glicoproteina virale, e l'arrivo di due copie di genoma virale insieme a due tRNA cellulari è in grado di promuovere il *budding* del virione. È solo dopo il rilascio dal virione dalla cellula che la proteasi virale, target di numerose strategie farmacologiche, agisce sui prodotti *Gag* e *Gag-pol* per rilasciare la RT e formare il core virale, assicurando così che tale enzima di tale importanza sia presente nel virione. Il rilascio del virione non provoca necessariamente la morte cellulare: gli effetti citopatici virali possono danneggiare la cellula, possono non farlo o possono indurre un particolare tipo di apoptosi chiamato piroptosi. È possibile che il virus diffonda da una cellula all'altra anche per la formazione di sincizi che però risultano più fragili e dunque più suscettibili agli effetti citopatici virali.

L'infezione iniziale delle cellule *MALT* induce repentina ed importante deplezione delle stesse con significativa modificazione della permeabilità della mucosa gastrointestinale, con sintomi gastrointestinali clinicamente apprezzabili ma con anche ingresso nel torrente circolatorio di una maggior quota di patogeni appartenenti al normale microbiota che alimentano lo stato infiammatorio indotto dal virus favorendone così la replicazione. In questa fase precoce l'infezione di macrofagi, cellule dendritiche (che possono a loro volta infettare le cellule T

Table 54-2 Retrovirus Genes and Their Function

Gene	Virus	Function
<i>gag</i>	All	Group-specific antigen: core and capsid proteins
<i>int</i>	All	Integrase
<i>pol</i>	All	Polymerase: reverse transcriptase, protease, integrase
<i>pro</i>	All	Protease
<i>env</i>	All	Envelope: glycoproteins
<i>tax</i>	HTLV	Transactivation of viral and cellular genes
<i>tat</i>	HIV-1	Transactivation of viral and cellular genes
<i>rex</i>	HTLV	Regulation of RNA splicing and promotion of export to cytoplasm
<i>rev</i>	HIV-1	Regulation of RNA splicing and promotion of export to cytoplasm
<i>nef</i>	HIV-1	Decreases cell surface CD4; facilitates T-cell activation, progression to AIDS (essential)
<i>vif</i>	HIV-1	Virus infectivity, promotion of assembly, blocks a cellular antiviral protein
<i>vpr</i>	HIV-1	Facilitates virion assembly and release, induces degradation of CD4
<i>vpx (vpx*)</i>	HIV-1	Transport of complementary DNA to nucleus, arresting of cell growth; facilitates replication in macrophages
LTR	All	Promoter, enhancer elements

AIDS, Acquired immunodeficiency syndrome; DNA, deoxyribonucleic acid; HIV, human immunodeficiency virus; HTLV, human T-cell lymphotropic virus; LTR, long terminal repeat (sequence); RNA, ribonucleic acid.  
\*Only in HIV-2.

Figura 1: principali geni retrovirali e rispettive funzioni

CD4+), cellule T della memoria e cellule ematopoietiche staminali si configura come un “*cavallo di troia*” che garantisce la formazione di un *reservoir* virale. L’infezione delle cellule T della memoria insieme alla capacità di infettare delle regioni come il SNC ed il tessuto testicolare permette al virus di esser presente in cellule e tessuti immunologicamente privilegiati al riparo dalla capacità del sistema immunitario di intervenire.

È noto che la deplezione delle cellule CD4+ non è causata direttamente dal virus, ma in gran parte ne è conseguenza indiretta: alcune proteine virali, tra cui la gp120 più di altre, hanno la capacità di innescare meccanismi apoptotici, ma soprattutto è il circolo vizioso rappresentato dalla cronica attivazione del sistema immunitario che sembra esser maggiormente responsabile della morte di diversi citotipi immunitari. L’alta viremia mantiene lo stato di cronica attivazione immunitaria, con cellule immunitarie competenti sequestrate nei distretti linfoidi, ottimo *pabulum* dove il virus può replicare grazie al perfetto tropismo cellulare ed alle favorevoli condizioni replicative ed infiammatorie che ne favoriscono i cicli replicativi. L’iperattivazione immunitaria è generalizzata, non coinvolge solamente i linfociti T helper, ma anche le cellule B ed i linfociti citotossici ad esempio. Tale stato infiammatorio costituisce uno stato pro-apoptotico per le cellule CD4+, cellule che vengono ulteriormente attaccate da fenomeni di autoreattività anticorpo/cellulo-mediata che si verificano per la forte mimicria molecolare tra le strutture *self* e le strutture virali. Vi sono diverse scuole di pensiero in merito alla genesi di tale attivazione immunitaria e le ipotesi più accreditate riguardano deficit delle cellule T regolatorie, deficit delle cellule T suppressors o la deplezione delle cellule MALT con alterazione della permeabilità della mucosa intestinale e attivazione immunitaria diffusa in risposta all’ingresso in circolo di una maggior quota di patogeni derivati dal microbiota intestinale. (1,2)

## 1.2 Meccanismi di escape dal sistema immunitario

Numerosi fattori, sia virali sia relativi all’ospite, rendono il virus in grado di eludere il sistema immunitario.

La notevole variabilità genetica di HIV è data principalmente dalla scarsa accuratezza trascrizionale della trascrittasi inversa virale, la quale si stima commettere un errore ogni 2000 paia di basi trascritte con circa, quindi, cinque errori per intero ciclo replicativo, e dalla notevole entità della produzione virale, stimata in circa  $10^9 - 10^{11}$  virioni al giorno prodotti: ciò è alla base del fenomeno definito “*antigenic drift*”, il quale può esitare in lievi ma significative differenze nell’antigenicità della glicoproteina gp120. (1,2)

Questo processo esita nella formazione delle numerosissime *quasispecie* di HIV che coesistono nei soggetti infetti. Diverse quasispecie, come anche differenti ceppi virali nel caso di pazienti che contraggono infezioni con quasispecie o sottotipi virali diversi, possono infettare la stessa

cellula, e ricombinarsi variamente nel fenomeno detto “*antigenic shift*” generando le cosiddette forme ricombinanti circolanti (*CRF, Circulating Recombinant Forms*) con imprevedibile variabilità dell’antigenicità delle strutture virali esterne.

Ciò sta alla base della difficoltà nel produrre un vaccino efficace contro l’infezione da HIV.

In aggiunta all’antigenic shift/drift dovuto alla variabilità genetica indotta dalla trascrittasi inversa virale, diverse proteine virali contribuiscono notevolmente all’escape immunitario. La proteina *Nef* ha un ruolo essenziale nel ridurre l’espressione di recettori specifici nella membrana plasmatica delle cellule infettate e di alterarne i pathway cellulari relativi alle risposte immunitarie, la proteina *Vpu* per la modulazione dell’espressione di recettori critici in membrana ed infine la proteina *Vpx* che favorisce l’infezione di cellule privilegiate dal punto di vista del controllo immunitario, come i macrofagi e le cellule dendritiche.

La pressione selettiva indotta dal sistema immunitario e dal controllo farmacologico, specie se sub-ottimale, inducono quindi la selezione di quasispecie con fitness quasi invariabilmente inferiore rispetto al virus wild-type ma che acquisiscono di volta in volta caratteristiche favorevoli in termini di capacità replicativa.

L’infezione di cellule “privilegiate” dal punto di vista immunitario come macrofagi, cellule dendritiche e cellule CD4 dormienti, l’infezione di tessuti “santuari” come il sistema nervoso centrale e gli organi genitali garantisce un notevole vantaggio virale nei confronti del sistema immunitario, che risulta incapace, in ultima analisi, ad eradicare, se non talvolta a controllare, l’infezione. (1,2)

## **2. Epidemiologia**

Attualmente vivono nel mondo, secondo l’ultimo rapporto rilasciato da Unaid (3), 38.4 milioni di PLWH (patients living with HIV), di cui il 75% (28.7 milioni) è riportato avere accesso alle cure con farmaci antiretrovirali (HAART), ben lontani dal target 90-90-90 auspicato dall’OMS o dall’ancora più ambizioso 95-95-95 proposto da UNAIDS. Anche in Italia ed in numerosi paesi del mondo vari ricercatori stimano che questi target siano disattesi, con valori ben inferiori al 73% di pazienti (valore proposto dall’OMS come combinazione delle suddette percentuali) virologicamente soppressi rispetto a tutti i pazienti HIV positivi (diagnosticati o meno) (4).

Notevole è l’impatto della condizione socio-economica nella distribuzione globale dell’infezione: i paesi definiti *low-income* ospitano la maggior parte dei soggetti HIV positivi, con oltre il 60% dei PLWH globali riscontrati in Africa (5) seguiti da Sud-est asiatico, Europa dell’est, Asia centrale, America centrale e del sud. La prevalenza più alta si attesta in Africa sub-sahariana (5%) e nelle regioni caraibiche (1%). Altro esempio a sostegno di questa affermazione è che il 50% dei soggetti HIV positivi negli Stati Uniti d’America risultano vivere

in aree urbane povere, con una prevalenza di infezione da HIV attestata al 2%, di ben venti volte superiore al dato nazionale (6).

Per quanto riguarda l'Italia, a farci discostare dall'obiettivo 90-90-90, secondo le statistiche del 2019 rilasciate da UNAIDS, è la percentuale dei pazienti in HAART, che risulta attestarsi all'87.36%.

In Italia vivono circa 142400 PLWH, con un'incidenza di circa 1770 casi anno, incidenza che si attesta più alta nelle fasce di età 30-39 (con 7.3 casi ogni 100000 abitanti) e nella fascia di età 25-29 (con 6.6 casi ogni 100000 abitanti) con un tasso di incidenza nazionale intorno ai 3 casi per ogni 100000 abitanti di cui un terzo dei nuovi casi circa (29.2%) si riferisce a soggetti di nazionalità non italiana. (7)

La mortalità per AIDS invece è di circa 650000 pazienti all'anno nel mondo e 382 pazienti all'anno in Italia, con un preoccupante dato nazionale che si attesta all'83% di pazienti con AIDS che non sapevano di essere HIV positivi e che ricevono diagnosi di AIDS entro sei mesi dalla diagnosi dell'infezione.

La via di trasmissione principale è quella sessuale, con l'83.5% delle infezioni contratte attraverso rapporti non protetti, prevalentemente nel gruppo MSM (men that have sex with men) con il 39.5% sul totale, ed a seguire il gruppo degli eterosessuali maschi (27.2%) e femmine (16.8%) (7).

Drammatico è notare che il motivo più frequente che conduce alla diagnosi è proprio il sospetto di patologia HIV-correlata o presenza di sintomi HIV-correlati, nonostante gli sforzi portati avanti in tanti anni in termini di campagne di sensibilizzazione. Gli accertamenti in seguito a rapporti non protetti o comportamenti a rischio contribuiscono per il 16.6% ed il 9.4% rispettivamente.

I dati di prevalenza dell'infezione da HIV per fasce di età rivelano che i soggetti MSM rappresentano il 50% dei positivi nel sottogruppo di 20-24 anni di età, con eterosessuali femmine (26%) e maschi (12%) a seguire. I soggetti che fanno uso di droga endovenosa (IDU) in questa fascia di età rappresentano una percentuale minima (1.7%). Nella fascia di età compresa tra i 50 ed i 59 anni invece i soggetti MSM rappresentano ancora un'alta percentuale (il 39.5%) ma gli eterosessuali maschi superano il gruppo delle donne eterosessuali (30.8% e 16% rispettivamente). Tra le diverse fasce di età, la via di trasmissione endovenosa, risulta manifestare il suo picco (inferiore al 5.2%) nei soggetti tra i 30 ed i 60 anni.

Un altro dato molto importante, per via delle ricadute cliniche che implica, è la composizione della popolazione nelle diagnosi tardive, caratterizzate da un nadir di cellule CD4+ inferiore alle 200 copie su microlitro. In questo gruppo si nota che prevalgono gli eterosessuali maschi seguiti da eterosessuali femmine, IDU ed infine MSM. Questo dato è clinicamente rilevante in

quanto vari studi indicano come sia significativa la relazione fra un basso valore al nadir delle cellule CD4<sup>+</sup> (inferiore alle 200 unità su microlitro) e l'incapacità, in una percentuale di soggetti che può raggiungere il 40% (8,9) di ottenere una ricostituzione immunitaria adeguata e come questo correli anche con l'estensione del reservoir virale e di conseguenza con lo stato proinfiammatorio causato dall'infezione, con aumento significativo di comorbidità AIDS-non correlate(9).

### 3. Decorso clinico

La trasmissione del virus vede tre importanti vie di infezione: la più efficace è sicuramente quella parenterale, tra cui attraverso trasfusioni (estremamente rara ma con efficienza vicina al 100% (2) e attraverso scambio di siringhe infette nei soggetti IDU (intravenous Drug Users), quella sessuale che rappresenta la principale via di acquisizione virale, e la trasmissione verticale con alti tassi di infezione perinatale e continui scambi materno-neonatali che aumentano di molto la probabilità di cronicizzazione dell'infezione virale nel neonato.

*Fase acuta.* Successivamente all'infezione la forte risposta delle cellule T alla presentazione antigenica operata dalle cellule dendritiche APC (*Antigen Presenting Cells*) promuove una sintomatologia sovrapponibile alla sindrome da mononucleosi infettiva. In seguito a questa fase acuta, caratterizzata da febbre, linfadenopatia generalizzata, sintomi gastrointestinali e sintomi influenzali aspecifici, la replicazione virale procede nei linfonodi, con alterazione e distruzione della loro struttura anatomica, ed i linfociti T CD4<sup>+</sup> continuano progressivamente a ridursi di numero.

*Fase di latenza clinica.* Nella fase detta di latenza clinica, si raggiunge lentamente un plateau viremico ed una fase di equilibrio apparente, che perdura circa per 8-10 anni, in cui il valore delle cellule CD4<sup>+</sup> rimane più o meno stazionario e si attesta a valori pressoché normali. È progredendo nella patologia che la deplezione delle cellule CD4<sup>+</sup> si fa talmente importante da non riuscire più a sostenere l'attivazione delle cellule citotossiche CD8<sup>+</sup>, essenziali nel controllo dell'infezione sia grazie alla loro azione citotossica diretta sia grazie alla secrezione di citochine e mediatori solubili cellulari in grado di contrastare l'infezione. Con valori di cellule CD4<sup>+</sup> inferiori alle 500 unità per microlitro si inficia notevolmente la risposta immunitaria delle cellule CD4<sup>+</sup> Th17, con conseguente incapacità di attivare i neutrofili e di proteggere l'epitelio mucoso di rivestimento dei vari organi che ne sono provvisti con aumento notevole della suscettibilità alle infezioni fungine e batteriche in generale.

*Fase di immunodeficienza acquisita.* Progressivamente si raggiunge quindi la fase di AIDS, ovvero di immunodeficienza acquisita, caratterizzata da livelli di cellule CD4<sup>+</sup> inferiori alle 200 unità su microlitro ed una viremia solitamente maggiore di 75000 copie su microlitro, che

espone il soggetto a numerose patologie opportunistiche e neoplastiche di cui le principali sono le seguenti: polmoniti da *Pneumocystis jirovecii*, candidiasi orale, toxoplasmosi cerebrale, meningite criptococcica, infezione da *Mycobacterium tuberculosis*, varie infezioni virali tra cui la ricorrenza delle infezioni da Herpesvirus, VZV, EBV, CMV e varie patologie maligne tra cui ad esempio Sarcoma di Kaposi e linfomi EBV-correlati. L'infezione da HIV ha un impatto molto negativo anche sulle cellule del sistema nervoso, con coinvolgimento significativo delle cellule macrofagiche e della microglia, ed i meccanismi di danno prevedono sia danni diretti citotossici che mediati da sostanze infiammatorie rilasciate dalle cellule infettate. Clinicamente questo si traduce in vari quadri neurologici come ad esempio la *HIV-associated dementia complex*, l'encefalopatia da HIV.

### 3.1 HIV e stato pro-infiammatorio

Di notevole importanza, oltre a tutte queste condizioni citate, è lo stato pro-infiammatorio che l'infezione da HIV causa anche nei pazienti trattati farmacologicamente e che correla con complessi e numerosi quadri clinici che impattano notevolmente sulla qualità e talvolta sull'aspettativa di vita dei PLWH.

Vari studi si sono preposti di indagare i meccanismi cellulari e molecolari di questo stato infiammatorio, e di comprendere come questo impatti negativamente sull'organismo. Nonostante la terapia antiretrovirale, sia per la presenza di *low-level residual viremia*, sia per la persistente replicazione virale minima nei reservoir virali, l'infezione cronica da HIV è in grado di causare alterazioni nel *signalling* cellulare, disfunzioni metabolico-mitochondriali, alterazione telomeriche con invecchiamento precoce (specie nelle cellule del sistema immunitario), aumentata produzione di specie reattive dell'ossigeno, tutti fattori in grado di determinare delle alterazioni linfocitarie ed organiche clinicamente rilevanti fino all'aumento d'incidenza in questi soggetti della patologia neoplastica(9).

Da nuovi studi si è riusciti a caratterizzare la natura di numerose microvescicole riscontrate maggiormente in soggetti HIV positivi, vescicole CD9+ provenienti dunque dalla membrana plasmatica piastrinica in grado di promuovere uno stato proinfiammatorio e pro-coagulativo (10). Questo è sicuramente uno dei meccanismi alla base dello stato proinfiammatorio indotto dall'infezione da HIV e che si associa a comorbidità rilevanti come disturbi metabolici, stato pro-coagulativo e progressione della patologia aterosclerotica e cardiovascolare.

Ciò si traduce clinicamente nell'alta prevalenza delle *NARCs*, *non-AIDS-related Comorbidities*, nei soggetti PLWH, che si attesta tra il 50-90% secondo vari studi (11). Le comorbidità più frequenti sono essenzialmente metaboliche come l'ipercolesterolemia, l'ipertensione arteriosa, il diabete mellito, ma anche problematiche di tipo psichiatrico (depressione o cronici stati

d'ansia), co-infezione con HCV, patologie renali (con riduzione importante della filtrazione glomerulare o litiasi renale), enfisema polmonare o bronchioliti, osteoporosi, co-infezione con HBV, infarto miocardico acuto e stroke.

Nei pazienti PLWH si può anche notare un significativo aumento nell'insorgenza di tumori definiti *NADC, non-AIDS-defining cancers*. In particolare nei PLWH si riscontra un aumento dell'incidenza di linfomi di Hodgkin (contratto in età mediamente più tardive), tumori della regione testa-collo e tumori epatici, un'incidenza stabile per tumori polmonari ed anali, ma con più frequente diagnosi dei tumori polmonari in fasi avanzate ed in età più precoci, un'incidenza di carcinomi mammari ad età più precoci ed una ridotta incidenza di tumori colo-rettali, mammari e prostatici rispetto alla popolazione generale. La sopravvivenza per alcune neoplasie, come quella polmonare, prostatica ed ematologica (L. di Hodgkin) si è rivelata significativamente inferiore. La patogenesi contempla diverse cause, tra cui la ridotta sorveglianza immunitaria e l'aumentata attivazione immunitaria, la frequente associazioni tra *NADCs* e patogenesi virale, la senescenza cellulare precoce indotta dall'infezione da HIV, il possibile ruolo del retrovirus nell'attivazione di oncogeni o proto-oncogeni cellulari e nell'inibizione di geni tumor-suppressor, l'immunosenescenza associata ad HIV e la capacità del virus di indurre instabilità genetica e anomalie endoteliali con maggior suscettibilità all'effetto di sostanze cancerogene (11).

### **3.2 Co-infezione con HBV e HCV**

Di grande importanza clinica sono anche le coinfezioni con HBV e HCV, sia perché condizionano o complicano il trattamento farmacologico esponendo potenzialmente il paziente ad effetti avversi non trascurabili, sia perché responsabili di un più difficile controllo della replicazione virale di HIV.

La coinfezione con HCV si stima essere molto alta nei PLWH, soprattutto a causa della condivisione per i due patogeni delle vie di trasmissione, e si stima verificarsi in almeno un terzo dei pazienti HIV positivi (12).

Per quanto riguarda HBV si stima invece che la percentuale di compresenza del virus nei PLWH sia intorno al 10% nei paesi a bassa endemia del virus dell'epatite B, mentre fino al 16% nei paesi ad alta endemia (13).

Nell'evenienza di questa coinfezione è dimostrato che, nonostante la soppressione di entrambi i patogeni, la mortalità e la morbilità sia significativamente più alta rispetto ad i pazienti con singola infezione con HIV o HBV. Anche in pazienti in terapia con regimi contenenti Tenofovir si è notata la progressione della patologia epatica nel 10-20% dei soggetti, come un aumento di almeno cinque volte del rischio di sviluppare epatocarcinomi (HCC) anche nei soggetti ben

trattati. È altresì noto che vi sia persistenza di HBV-DNA in circa il 10% dei soggetti trattati in regimi contenenti tenofovir (14).

Mentre è noto che non sia raccomandato lo switch alla duplice terapia (2DR) nei pazienti con infezione acuta da HBV (con HbsAg+), nessuna linea guida espone delle perplessità nei confronti dei pazienti con *Occult Hepatitis B Infection (OBI)*, condizione caratterizzata da una cronica infezione da HBV (con positività a HBV-DNA) ma in assenza della positività antigenica a HBsAg. Recenti studi hanno confermato la possibilità di utilizzare come marcatore di questa condizione di infezione occulta la positività anticorpale contro l'antigene *core* HBc (15). Vari studi indicano come nel 15-29% dei soggetti HBcAb+ sia possibile riscontrare la presenza di HBV-DNA (anche *criptico* ovvero rilevabile ma al di sotto delle 20 IU/mL dei test commerciali più comuni) (16,17). Le condizioni che possono predisporre alla cronicizzazione di HBV, per via di una risposta immunitaria insufficiente nei confronti del patogeno, sono rappresentate da neoplasie, trattamenti immunosoppressivi ed ovviamente infezione da HIV, ma i meccanismi attraverso i quali la coinfezione con HBV sfavorisce il controllo della replicazione di entrambi i virus è ben più complessa ed ancora in parte incompresa. Un meccanismo molto interessante riguarda l'interazione dei prodotti del gene X di HBV con le sequenze LTR di HIV, porzioni del genoma dove si trovano sequenze promotoriali ed enhancers, per via della sinergia dei prodotti del gene X con la proteina retrovirale *tat* ma sembra che anche l'HIV sia in grado di favorire la replicazione virale di HBV (14,18)

Recenti studi spiegano come queste considerazioni siano clinicamente rilevanti, in quanto si è dimostrato che i soggetti HBcAb positivi presentano un peggior controllo della viremia a tutti i tempi di follow-up, fino ad almeno 48 mesi, in termini di low-level-viremia, ovvero presentando valori di HIV-RNA *detectable* ma al di sotto delle 20 copie su mL, e che nel complesso la positività ad HBcAb conferisce un rischio aumentato del 54% rispetto al gruppo con negatività anticorpale a 48 mesi di presentare un controllo sub-ottimale della viremia. Il controllo subottimale della viremia, come già detto, risulta associato a maggior frequenza di fallimento virologico ed insorgenza di resistenze (19,20).

### **3.3 Ruolo dell'archivio di DNA provirale.**

È noto in letteratura che esiste una relazione tra alti livelli di HIV-1 DNA nelle cellule mononucleate periferiche (PBMCs) e scarso controllo virologico a lungo termine, progressione dell'infezione a AIDS ed aumentata mortalità (76,77). L'utilizzo di tale strumento si è anche rivelato utile nell'indagare l'efficacia dei vari regimi terapeutici sui reservoir virali (77,78).

Si può inoltre affermare che una maggior durata della terapia HAART correla con minori livelli di HIV-DNA nelle PBMCs [HIV DNA], per via della cinetica di decadimento del DNA

provirale in tali citotipi, che risulta bifasica: nei primi tre mesi si nota un forte decremento, seguito da un decadimento più lento con tempo di dimezzamento di circa 6.6 mesi.

In uno studio condotto su 163 pazienti è stato notato come vi siano dei determinanti, anagrafici o viro-immunologici, associati a minori livelli di HIV-DNA su PBMCs. In particolare livelli di HIV-DNA inferiori al 25° percentile sono stati maggiormente riscontrati nei soggetti MSM (p value = 0.06), nei soggetti con numero assoluto e percentuale pre-HAART e corrente di CD4+ maggiore (p value = 0.005 e p value = 0.01). La durata (maggiore) del trattamento è risultata un parametro indipendentemente associato a minori livelli di HIV-DNA (p value = 0.006) (77). La determinazione dei livelli di HIV-DNA sulle cellule mononucleate periferiche potrebbe quindi essere un valido strumento per guidare la scelta terapeutica, specialmente se si volesse decidere di semplificare il regime terapeutico o cominciarne uno long-acting.

#### **4. Monitoraggio laboratoristico dell'infezione da HIV**

##### **4.1 Screening e Diagnosi**

Tra i soggetti da sottoporre a screening si elencano coloro che abbiano avuto rapporti sessuali a rischio, i soggetti risultati positivi ad infezioni sessualmente trasmissibili, infezioni da HBV, HCV e TB, i soggetti che presentano sintomi sospetti di infezione acuta o cronica da HIV, i tossicodipendenti (IDU), i soggetti in regimi profilattici per quanto riguarda i relativi controlli periodici, gli operatori sanitari nel caso di esposizioni professionali definite a rischio per l'infezione da HIV e le donne prima e dopo la gravidanza per evitare la trasmissione verticale dell'infezione.

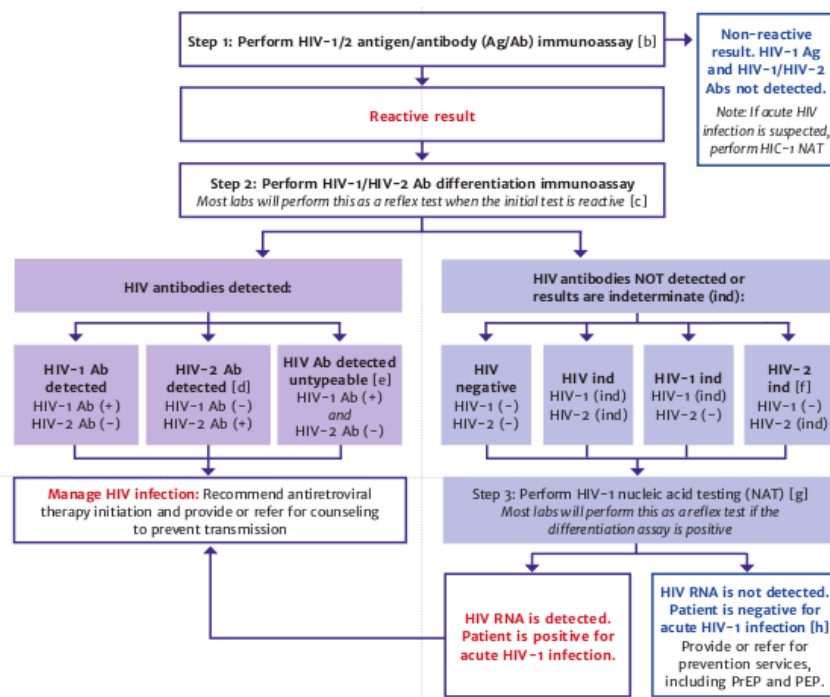
Per quanto riguarda il lato diagnostico il CLSI (*Clinical and Laboratory Standard Institute*) nel 2011 ha ribadito la necessità della positività a due saggi "ortogonali", ovvero basati su metodiche differenti oppure che prevedano l'utilizzo di preparazioni antigeniche differenti, per definire la positività all'infezione da HIV.

I test diagnostici si avvalgono raramente delle metodiche molecolari: la diagnosi si avvale principalmente di test "immuno-assay" di quarta generazione in grado di rilevare sia la presenza di anticorpi diretti contro il virus (ELISA) sia della presenza stessa di antigeni virali. Il periodo finestra è di circa 40 giorni (mediamente gli antigeni virali risultano rilevabili in 20 giorni) e la rilevazione degli antigeni virali consente l'identificazione dell'infezione sia nei pazienti in cui questa è molto precoce, in cui gli anticorpi non sono ancora stati prodotti, sia nei pazienti con infezioni croniche misconosciute di lunga durata in cui la produzione anticorpale sia ormai drasticamente ridotta. La produzione anticorpale si ha già dopo una settimana dal contagio in

meno del 10% dei pazienti, dopo due o tre settimane in circa la metà dei pazienti ed in quasi la totalità dei pazienti la sierconversione avviene entro 3 mesi.

Rari sono i falsi positivi, e virtualmente impossibili sono due false positività consecutive utilizzando preparati antigenici differenti contenuti in test prodotti da case farmaceutiche diverse.

La positività ad un test di IV generazione richiede una successiva analisi attraverso metodiche *Western-blot*, ed attraverso i test disponibili è possibile differenziare le infezioni da HIV-1 ed HIV-2: di seguito una figura con l'algoritmo diagnostico (21).



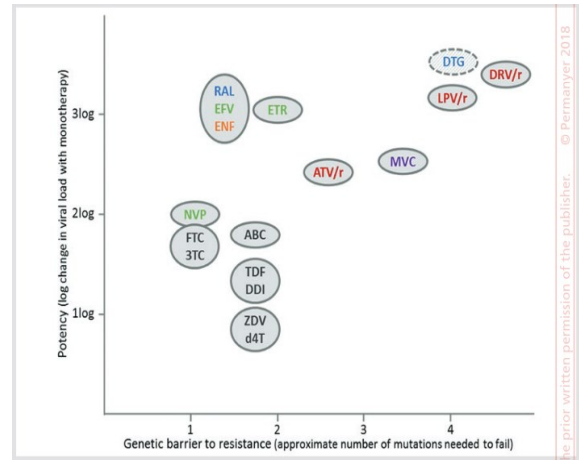
**Figura 2:** Algoritmo diagnostico per l'infezione da HIV

## 5. Trattamento

Secondo le attuali linee guida, e contrariamente a quanto si riteneva un tempo, l'inizio della terapia deve avvenire il prima possibile, indipendentemente dallo stato viro-immunologico. Anche nel caso di pazienti con infezione acuta o primaria (in assenza o in presenza, rispettivamente, di anticorpi contro HIV) è essenziale una rapida presa in cura del paziente, sia per migliorare la sintomatologia quando presente, sia per i noti benefici di una terapia precoce come la riduzione del reservoir virale e dell'archivio virale, una minor evoluzione genetica del virus, la riduzione dello stato di attivazione immunitaria, la protezione del tessuto linfoide, intestinale e nervoso, la determinazione di un nadir di cellule CD4+ più alto (risulta molto rapido infatti l'intervallo tra l'identificazione di un'infezione primaria e valori di CD4+ inferiori alle 500 cellule/microlitro) ed i benefici in termine di salute pubblica in quanto il trattamento precoce riduce la possibilità di trasmissione virale (22)

### 5.1 Classi farmacologiche e farmaci ARV

Esistono diverse classi farmacologiche utilizzate nel trattamento dell'infezione da HIV, con meccanismi d'azione molto diversi tra loro, effetti avversi differenti e diversa barriera genetica alla resistenza. Quest'ultimo concetto indica il numero di mutazioni necessarie per rendere inefficace un farmaco antiretrovirale: di seguito si mostra un grafico con potenza e resistenza relativi a diversi farmaci antiretrovirali (23,24).



**Figura 3:** *potenza e barriera di resistenza alle mutazioni per vari farmaci ARV*

Le diverse classi, più o meno utilizzate nella pratica clinica, con brevi approfondimenti per ciascuna di esse, sono le seguenti:

1) *NRTIs*. Si tratta della prima categoria farmacologica utilizzata nella cura dell'infezione da HIV, gli inibitori nucleos(t)idici della trascrittasi inversa. In commercio si possono trovare, come formulazione singola, i seguenti farmaci: Abacavir (ABC), Emtricitabina (FTC), Lamivudina (3TC), Zidovudina (AZT), Tenofovir Disoproxil Fumarato (TDF). Il meccanismo d'azione prevede la competizione di tali farmaci con i normali deossinucleotidi nella replicazione del DNA virale, con impossibilità, vista la mancanza di un gruppo idrossile al 3', di formare il legame fosfodiesterasico 5'-3' necessario per la progressione delle sintesi del DNA virale. Gli effetti avversi intrinseci a questa classe farmacologica riguardano la tossicità metabolica e mitocondriale, per via del blocco della DNA polimerasi  $\gamma$  mitocondriale ad opera di questi farmaci. I primi NRTIs erano gravati da importanti effetti avversi in tal senso (Didanosina, Stavudina e Zidovudina) mentre raramente questo accade con i nuovi farmaci. La tossicità mitocondriale può manifestarsi con acidosi lattica, steatosi epatica, miopatia e cardiomiopatia, neuropatie periferiche, pancreatiti e lipodistrofia, effetti non sempre completamente reversibili.

Nello specifico con i nuovi NRTIs raramente si osserva acidosi lattica e neuropatia periferica. Dal punto di vista del metabolismo lipidico i vecchi NRTIs incidevano significativamente in maniera negativa, mentre ABC, FTC e 3TC risultano avere un effetto trascurabile. Solo TDF migliora il profilo lipidico mentre TAF sembra peggiorarlo anche se non si sa ancora se ciò si traduca in effetti clinicamente rilevanti. Anche la lipodistrofia sembra causata essenzialmente dai vecchi NRTIs, condizione che può anche rivelarsi irreversibile e priva di trattamenti ritenuti

davvero efficaci (25,26), pertanto risulta molto importante conoscere l'anamnesi farmacologica antiretrovirale del paziente.

Altri effetti avversi specifici per ciascun farmaco da tener presente sono i seguenti (27):

- Abacavir: presenta un rischio di reazioni di ipersensibilità importanti nei soggetti HLA\*B5701 positivi ed un controverso aumento del rischio cardiovascolare che ne rende incerta la sicurezza nei pazienti con patologie cardiache o con significativi fattori di rischio cardiovascolari.

- XTC: la Lamivudina e l'Emtricitabina sono i farmaci NRTIs dalla migliore tollerabilità e profilo di sicurezza. Nei pazienti che assumono XTC si sono rilevati maggiormente rispetto ai controlli effetti indesiderati quali scolorazione della cute, delle unghie e della lingua.

- TDF: per quanto riguarda questa formulazione del Tenofovir si sono riscontrati aumenti nella frequenza di effetti avversi renali e ossei, di cui si parlerà più dettagliatamente in seguito.

- TAF: per quanto il suo profilo di sicurezza in termini renali ed ossei sia di gran lunga migliore rispetto al TDF, questo farmaco causa un'alterazione di alcuni, ma non altri, parametri lipidici, come l'aumento del colesterolo totale ma anche del colesterolo HDL. Sono spesso riportati lievi sintomi gastrointestinali e sembra inoltre che il TAF possa essere responsabile di un certo incremento ponderale rispetto al TDF. Non è, infine, raccomandato in pazienti con una clearance della creatinina stimata al di sotto dei 30mL/min (28).

- AZT: è un farmaco raramente utilizzato ma gravato da importanti affetti avversi. Oltre ad affaticamento, mal di testa e sintomi gastrointestinali, si verificano con una certa frequenza lipodistrofia, soppressione midollare con anemia e leucopenia ed una significativa miopatia (fino al 17% dei pazienti) con incremento dei livelli di Creatina Chinasi ematica.

2) *NNRTIs*. Tra i farmaci appartenenti alla classe degli inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa disponibili in commercio ad uso singolo troviamo la Rilpivirina (RPV) e la Doravirina (DOR), altri farmaci invece meno utilizzati o utilizzati in coformulazione sono la Nevirapina (NVP), l'Efavirenza (EFV) e l'Etravirina (ETR). In generale, gli NNRTIs sono associati a patologia cutanea con frequente riscontro di rash cutanei (fino al 16% dei pazienti), comparsa di rash severi nel 6% dei pazienti e rari ma temibili condizioni come la sindrome di Stevens-Johnson che occorre in meno dell'1% dei pazienti trattati con NVP.

Nello specifico:

- Doravirina: è caratterizzata dal miglior profilo di sicurezza tra la categoria, con buon profilo lipidico ed effetti avversi estremamente rari, tra cui effetti neuropsichiatrici (che portano ad interruzione della terapia in meno dell'1% dei soggetti in terapia con tale farmaco) e rash cutanei lievi.

- Efavirenz: è un farmaco molto potente all'interno di questa categoria ma con effetti avversi tali da non esser più raccomandato come componente della HAART in assenza di altre

alternative. È noto che pazienti con l'allele CYP2B6\*6 sono a maggior rischio di tossicità da EFV, per via di una forte riduzione del suo metabolismo.

Gli effetti avversi più significativi riguardano il prolungamento dell'intervallo QTc, per cui viene sconsigliato nei pazienti che assumono altri farmaci che possono allungare tale intervallo, effetti sul metabolismo lipidico, epatotossicità tale da venir sconsigliato in pazienti con insufficienza epatica (Child-Pugh classe B o C), frequenti rash cutanei talvolta anche molto gravi (sindrome di Stevens-Johnson riportate in letteratura) ed infine effetti neuropsichiatrici importanti (tra cui insonnia, allucinazioni, depressione, irritabilità ed alterazioni nella concentrazione, ideazione suicidaria e slatentizzazione/esacerbazione di patologie psichiatriche) tali per cui se ne sconsiglia l'utilizzo nei soggetti con pregresse o attuali patologie psichiatriche.

- Etravirina: farmaco poco utilizzato e responsabili di frequenti rash cutanei, raramente gravi, che inducono l'interruzione della terapia in circa il 2% dei pazienti.

- Nevirapina: è un farmaco con possibili effetti avversi gravi e una potenza inferiore ad altri della categoria farmacologica, motivo per cui non è più né raccomandato né considerato come farmaco alternativo nella terapia iniziale. Gli effetti avversi prevedono una forte epatotossicità ed un grave rash cutaneo (reazioni di ipersensibilità).

È in grado di aumentare i livelli di colesterolo HDL maggiormente di quanto non aumenti i livelli di colesterolo LDL.

- Rilpivirina: vari studi hanno dimostrato la superiorità in termini di effetti avversi della RPV rispetto all'Efavirenz (gli studi *ECHO*, *THRIVE* e *STaR*) e un minor tasso di interruzione della terapia. Gli effetti avversi da tenere a mente sono un possibile aumento dell'intervallo QTc per cui si sconsiglia la cosomministrazione con altri farmaci che possono prolungare tale intervallo, l'aumento della creatinina sierica per inibizione della secrezione renale della creatinina (dunque rappresenta un'apparente ma non vera riduzione della funzionalità renale) ed effetti neuropsichiatrici come depressione e insonnia.

3) *Entry Inhibitors*. In questa classe farmacologica sono comprese le seguenti sottoclassi.

3.1) *Attachment inhibitors*. L'unico farmaco della categoria è il Fostemsavir (FTR), con somministrazione orale di due compresse a rilascio prolungato al giorno, ed è indicato in pazienti con ceppi multi-resistenti per cui non esistono molte altre opzioni terapeutiche. Il trial clinico *NCT02362503 (BRIGHTE study)* ha rivelato percentuali di soppressione virologica molto alte (in oltre il 60% dei pazienti) a 96 settimane, dimostrando così l'efficacia di tale farmaco in pazienti con resistenze a numerosi farmaci e in cui il controllo virologico non riusciva ad essere raggiunto altrimenti. Nei trial di fase III pochi effetti avversi sono segnalati,

la maggior parte dei quali sono rappresentati da aspecifici sintomi gastrointestinali quali diarrea e nausea. Il FTR è un profarmaco del principio attivo Tenofovir, che agisce legando la glicoproteina di membrana gp120 virale, impedendo l'entrata del virus nella cellula (29).

3.2) *Inibitori della fusione (FIs)*. L'unico farmaco della categoria è l'Enfuvirtide (ENF), somministrato per via sottocutanea due volte al giorno in pazienti treatment-experienced con limitate opzioni terapeutiche residue. La sua somministrazione può dare reazioni al sito di inoculo. Il meccanismo d'azione prevede l'azione del farmaco alla glicoproteina virale gp41, impedendo la fusione del virus con la cellula target in seguito al legame tra la gp120 e il recettore CD4.

3.3) *Inibitori post-attacco (Post-Attachment Inhibitors)*. Si tratta di un anticorpo monoclonale umanizzato, Ibalizumab (IBA), per il trattamento dell'infezione da HIV disponibile dal 2019, con una posologia che prevede una somministrazione endovenosa ogni due settimane. Le reazioni avverse comunemente riscontrate prevedono diarrea, nausea, rash e vertigini, come anche possono occorrere reazioni al sito di infusione. Il meccanismo d'azione prevede il legame del farmaco con i corecettori CCR5 e CXCR4 impedendo quindi l'ingresso di HIV nella cellula ospite in fase di post-attachment.

3.4) *Antagonisti del recettore CCR5*. Il Maraviroc, unico farmaco della categoria nonché principio poco utilizzato vede come meccanismo d'azione il legame al corecettore CCR5 presente in diversi citotipi CD4+ con lo scopo di impedire il corretto legame tra HIV e le cellule bersaglio. Per somministrare questo farmaco è necessario accertarsi che il tropismo del virus sia quasi completamente R5-tropico. Vista l'interazione di questo farmaco con una proteina umana, CCR5, ci si aspettavano maggiori e più gravi effetti avversi rispetto a quelli che gli studi post-marketing hanno nel tempo dimostrato. Gli effetti avversi noti sono cutanei, con rash anche importante fino a rari casi di sindrome Stevens-Johnson, generalmente avvenuta in pazienti che assumevano contemporaneamente altri farmaci che potevano causare questa sindrome, ed epatici, con epatotossicità non significativa, come si evince dai trials MERIT e MOTIVATE, anche se un monitoraggio epatico ravvicinato è consigliato. Sembra invece che non vi sia un particolare impatto del farmaco sulle funzioni immunitarie in termini di aumento di infezioni o neoplasie.

4) *Inibitori della Proteasi (PIs)*. Di questa classe è disponibile in commercio il Darunavir (DRV) come formulazione non boosted e il DRV/c e ATV/c come formulazioni potenziate con il Cobicistat. Altri farmaci molto meno utilizzati sono la combinazione Lopinavir/Ritonavir (LPV/r), il Saquinavir (SQV) ed il Tipranavir (TPV). Il meccanismo d'azione è rappresentato dall'inibizione delle proteasi virali, deputate alla scissione dei filamenti polipeptidici, tradotti dai rispettivi mRNA virali, precursori dei vari componenti proteici necessari alla replicazione

virale ed alla formazione dei virioni. Non si utilizzano solitamente come terapia di prima linea, dalle linee guida EACS sono infatti suggeriti nei regimi di terapia alternativa.

Gli effetti avversi comuni all'interno della categoria sono quelli metabolici, con dislipidemia e insulino-resistenza che può esitare in forme di diabete di tipo II, gastrointestinali (specialmente in terapia con LPV/r) minori nei PIs più recenti ma comunque più significativi rispetto ad altre categorie farmacologiche ARV, quelli cardiovascolari, significativi solamente per i farmaci Indinavir e LPV/r (secondo lo studio D:A:D (30)), quelli di conduzione cardiaca, con aumento dell'intervallo PR specialmente con ATV/r, LPV/r e SQV/r per cui se ne sconsiglia l'assunzione in concomitanza con terapie che possono prolungare tale intervallo, aumento del rischio di sanguinamento nei pazienti emofilici, anche se ciò non ne rappresenta una controindicazione ma impone solo un atteggiamento più prudente, ed infine lipodistrofia che però risulta scarsamente associata all'assunzione dei PIs di seconda generazione.

Nello specifico:

- Atazanavir: un tempo utilizzata molto frequentemente nelle combinazioni di prima linea, ha poi perso popolarità per la sua scarsa potenza e per via degli effetti avversi non indifferenti, tra cui l'iperbilirubinemia indiretta, per inibizione dell'enzima UGT1A1, la nefrolitiasi, che si verifica in circa l'1% dei soggetti ed un'incerta associazione con casi di colelitiasi.

-Darunavir: è il farmaco più utilizzato tra i PIs nelle terapie di seconda linea o di salvataggio e causa spesso effetti avversi di modesta entità, quali effetti gastrointestinali nel 5-14% dei pazienti, rash cutanei nel 10% dei pazienti che si manifestano nelle prime quattro settimane di trattamento per poi risolversi spontaneamente e rash cutanei severi nell'1% dei pazienti associati a febbre ed aumento degli enzimi epatici.

- Indinavir: farmaco non più usato se non in rarissimi casi, gravato da notevoli tossicità renali ed urologiche quali nefrolitiasi nel 20% dei pazienti, disuria, dolore al fianco, coliche renali, ematuria, insufficienza renale acuta o cronica e necrosi papillare.

-Lopinavir+Ritonavir (LPV/r): sebbene venisse un tempo molto utilizzato, attualmente è una scelta infrequente di trattamento per via della maggior tossicità rispetto ad altri inibitori delle proteasi ed alla posologia poco pratica. Gli effetti avversi sono essenzialmente relativi al profilo lipidico, con aumento del colesterolo e dei trigliceridi e relativi all'apparato gastrointestinale, comuni e ben più frequenti rispetto al trattamento con nuovi PIs.

-Saquinavir: farmaco raramente utilizzato per via della scarsa tollerabilità, dell'alto numero di pillole da assumere e per via degli effetti avversi aritmici che ne possono derivare. Questi effetti avversi riguardano, per la coformulazione SQV/r, l'aumento degli intervalli PR e QTc.

-Tipranavir: farmaco raramente utilizzato sia per il numero di pillole da assumere sia per gli effetti avversi importanti, come una notevole epatotossicità (sconsigliato in pazienti in

insufficienza epatica classe B o C della stadiazione Child-Pugh) e un'augmentata frequenza di emorragie intracraniche per cui ne è sconsigliata la somministrazione in quei pazienti a rischio per tale condizione.

5) *Integrase Strand Transfer Inhibitors (INSTIs)*. Tra i farmaci presenti in commercio in questa categoria si annoverano il Raltegravir (RAL), il Dolutegravir (DTG) ed il Cabotegravir (CAB) nelle sue due formulazioni, orale ed iniettabile. Altri farmaci presenti in altre coformulazioni sono l'Elvitegravir (EVG) ed il recente Bictegravir (BIC). Il meccanismo d'azione prevede l'inibizione dell'enzima Integrase virale, impedendo quindi l'integrazione del genoma umano nel genoma della cellula ospite.

Tale classe farmacologica è ben tollerata in termini di effetti avversi ed interazioni farmacologiche, ed i disagi sperimentati dai pazienti sono per lo più rappresentati da mal di testa, affaticamento, sintomi gastrointestinali ed insonnia, quasi mai di gravità tale da imporre l'interruzione della terapia. Rari casi di disturbi dell'umore ed altri disturbi psichiatrici sono stati osservati.

Si nota la tendenza di Dolutegravir all'incremento ponderale, per meccanismi non ancora del tutto chiariti, specialmente se associato a TAF, ed è nota la correlazione tra assunzione di DTG o BIC e l'aumento dei livelli di creatinina sierica, correlata ad inibizione della secrezione a livello tubulare e dunque non correlata ad una reale diminuzione della funzione renale.

Nello specifico:

-Bictegravir: disponibile solo in coformulazione STR (*Single-Tablet Regimen*) con BIC/TAF/FTC, gli effetti avversi più frequentemente riscontrati sono diarrea, nausea e mal di testa. Ulteriori studi sono necessari per definire l'entità dell'incremento ponderale e dell'aumento della creatinina sierica in questa combinazione terapeutica.

- Dolutegravir: è generalmente un farmaco ben tollerato e sicuro nel trattamento sia di pazienti *naïve* che TEP (therapy-experienced patients). Si riscontrano con maggior frequenza le seguenti condizioni: aumento sierico della creatinina, insonnia (fino al 15% dei pazienti, ma raramente causa di interruzione farmacologica) e raramente miopatia ed incremento della creatinina chinasi.

- Elvitegravir: utilizzato in due STR combinazioni (c/EVG/TAF/FTC e c/EVG/TDF/FTC) non sono riportati particolari effetti avversi aggiuntivi rispetto a quelli da cobicistat (sintomi gastrointestinali e lieve aumento della creatinina sierica) e da TAF/TDF.

-Raltegravir: è il farmaco della categoria che gode di maggior esperienza clinica ed il farmaco con minori interazioni farmacologiche tra gli INSTIs. Tra gli effetti avversi si annovera aumento della creatinina chinasi, con qualche caso di rhabdomiolisi e miositi, miopatia prossimale e rari casi di rash cutanei severi (Sindrome di Stevens-Johnson). È sconsigliata quindi l'associazione di tale farmaco con le statine.

6) *Enhancers Farmacocinetici*. Il Ritonavir (un inibitore della Proteasi) ed il Cobicistat appartengono a questa categoria, e sono utilizzati come inibitori del sistema CYP450 con lo scopo di aumentare i livelli plasmatici di altri farmaci ART che ne sono substrato. È necessario quindi porre attenzione all'interazione farmaco-farmaco che può presentarsi in quei pazienti che assumono regimi di politerapia. Nello specifico il Ritonavir, non più usato ad alte dosi come inibitore della proteasi per via degli importanti effetti avversi, mantiene effetti gastrointestinali più o meno marcati alle concentrazioni utilizzate come inibitore del CYP3A4, mentre il Cobicistat (anch'esso inibitore del CYP3A4) oltre a lievi effetti gastrointestinali può dare un aumento dei livelli ematici di creatinina che non correlano con una reale diminuzione della funzionalità renale. Il Cobicistat è utilizzato in coformulazione con ATZ, DRV e EVG.

## **5.2 Monitoraggio del paziente in cART**

È raccomandato effettuare alcuni accertamenti nel paziente con nuova diagnosi di HIV prima di impostare un regime di terapia antiretrovirale combinata e monitorare il paziente durante il trattamento (31).

Prima dell'inizio della HAART è necessario valutare lo stato generale del paziente, con un'accurata anamnesi, esame obiettivo, esami ematochimici di base, valutare lo stato vaccinale, determinare il numero delle cellule CD4+ e l'entità della viremia, verificare la possibile presenza di coinfezioni (STIs, HBV, HCV, HAV e TB), valutare la presenza dell'antigene criptococcico nei pazienti con valori di linfociti T CD4+ inferiori alle 100 unità per microlitro, effettuare un test genotipico di resistenza basale nei confronti delle classi farmacologiche NNRTIs, NRTIs e PIs, ed infine, se si desidera somministrare Maraviroc o Abacavir è necessario valutare, rispettivamente, il tropismo virale ed escludere la positività per l'allele HLA-B\*57:01.

Dopo le prime sei settimane di terapia è necessario valutare la tollerabilità del regime somministrato e la viremia: la soppressione virologica di solito si ottiene in questo periodo di tempo, ma può impiegare anche 24 mesi soprattutto nei trattamenti senza l'utilizzo di INSTIs, in caso invece non avvenga è necessario effettuare un test genotipico per le resistenze. Nei pazienti in soppressione virologica stabile si raccomanda di determinare HIV-RNA ogni 3 mesi fino al raggiungimento della soppressione virologica per un intero anno, dopodiché la rilevazione della viremia e la determinazione delle cellule CD4+ può essere eseguita ogni sei mesi. Per quanto riguarda la determinazione delle cellule CD4+ si raccomanda di ripetere l'esame ogni sei mesi fino ad ottenere valori superiori alle 250 copie per microlitro per un anno consecutivo, dopodiché è possibile non ripetere l'esame se non clinicamente ritenuto opportuno oppure in caso di fallimento della terapia ARV.

Durante la cART è raccomandato proseguire gli screening appropriati per età e gruppi di rischio per STIs e TB, displasia cervicale o anale, valutare periodicamente lo stato di salute generale dei pazienti, ed effettuare un test annuale per HCV nei pazienti esposti a fattori di rischio quali i pazienti che hanno rapporti non protetti o i pazienti che fanno uso di droga endovenosa.

### **5.3 Trattamento dei pazienti con infezione da HIV cronica in assenza di esposizione a terapie ART**

Effettuare un test di resistenza genotipico è raccomandato, come è raccomandato che i risultati del test non differiscano l'inizio della terapia: è consigliata l'inclusione nella terapia iniziale di almeno un farmaco con alta barriera genetica alle resistenze, per poi eventualmente effettuare aggiustamenti alla luce dei risultati del test di resistenza.

La terapia può essere differita in alcune particolari condizioni come in presenza di infezioni opportunistiche che richiedono un primo trattamento di queste al fine di evitare, con l'inizio del trattamento HAART, la sindrome da ricostituzione immunitaria (*IRIS*) con peggioramento della patologia opportunistica e può essere differita anche nel caso dei pazienti definiti "controllers", ovvero pazienti con HIV-RNA <1000 copie/mL ed un'alta conta di cellule CD4+ anche se sarebbe indicata ugualmente per migliorare il quadro infiammatorio caratteristico dell'infezione da HIV.

Nei soggetti *naïve* è importante fare le seguenti valutazioni: ricercare la presenza di infezioni opportunistiche, valutare eventuali coinfezioni con TB o virus epatotropici, valutare la presenza di infezioni sessualmente trasmissibili (come sifilide, gonorrea, clamidia e HPV), valutare se presenti le cosiddette *treatment-limiting comorbidities*, valutare eventuali interazioni farmacologiche che potrebbero verificarsi data l'anamnesi farmacologica del paziente, valutare la capacità del soggetto di deglutire, indagare se si sia acquisita l'infezione nel contesto del fallimento di una profilassi pre-esposizione e nel caso di una donna fertile accertarsi di un eventuale stato di gravidanza o della volontà di concepire nel breve periodo (22).

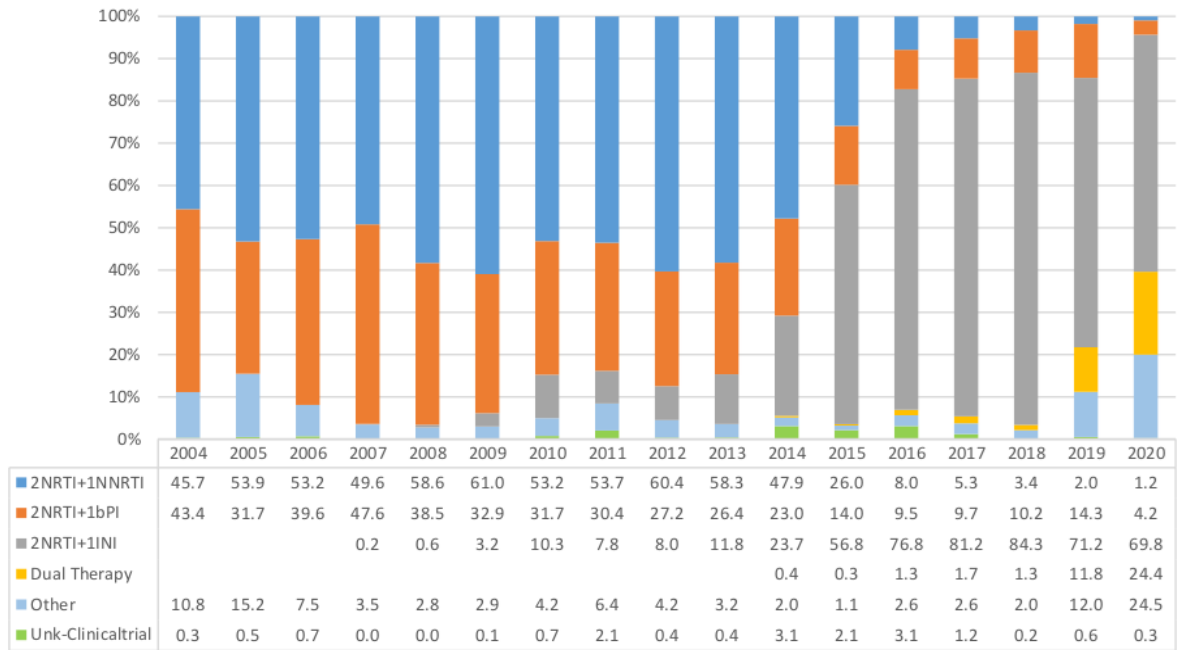
Nei soggetti con viremia baseline molto alta è possibile utilizzare farmaci come DTG o BIC per velocizzare la soppressione virologica.

I regimi terapeutici raccomandati ed alternativi sono disponibili nella seguente tabella (22).

Regimen	Main requirements	Additional guidance (see footnotes)
<b>Recommended regimens</b>		
<b>2 NRTIs + INSTI</b>		
ABC/3TC + DTG ABC/3TC/DTG	HLA-B*57:01 negative HBsAg negative	I (ABC; HLA-B*57:01, cardiovascular risk) II (Weight increase (DTG))
TAF/FTC/BIC		II (Weight increase (BIC, TAF))
TAF/FTC or TDF/XTC + DTG		II (Weight increase (DTG, TAF)) III (TDF: prodrug types. Renal and bone toxicity. TAF dosing)
TAF/FTC or TDF/XTC + RAL qd or bid		II (Weight increase (RAL, TAF)) III (TDF: prodrug types. Renal and bone toxicity. TAF dosing) IV (RAL: dosing)
<b>1 NRTI + INSTI</b>		
XTC + DTG or 3TC/DTG	HBsAg negative HIV-VL < 500,000 copies/mL Not recommended after PrEP failure	II (Weight increase (DTG)) V (3TC/DTG not after PrEP failure)
<b>2 NRTIs + NNRTI</b>		
TAF/FTC or TDF/XTC + DOR or TDF/3TC/DOR		II (Weight increase (TAF)) III (TDF: prodrug types. Renal and bone toxicity. TAF dosing) VI (DOR: caveats, HIV-2)
<b>Alternative regimens</b>		
<b>2 NRTIs + NNRTI</b>		
TAF/FTC or TDF/XTC + EFV or TDF/FTC/EFV	At bedtime or 2 hours before dinner	II (Weight increase (TAF)) III (TDF: prodrug types. Renal and bone toxicity. TAF dosing) VII (EFV: neuro-psychiatric adverse events. HIV-2 or HIV-1 group 0, dosing)
TAF/FTC or TDF/XTC + RPV or TAF/FTC/RPV or TDF/FTC/RPV	CD4 count > 200 cells/ $\mu$ L HIV-VL < 100,000 copies/mL Not on gastric pH increasing agents With food	II (Weight increase (TAF)) III (TDF: prodrug types. Renal and bone toxicity. TAF dosing) VIII (RPV: HIV-2)
<b>2 NRTIs + PI/r or PI/c</b>		
TAF/FTC or TDF/XTC + DRV/c or DRV/r or TAF/FTC/DRV/c	With food	II (Weight increase (TAF)) III (TDF: prodrug types. Renal and bone toxicity. TAF dosing) IX (DRV/r: cardiovascular risk) X (Boosted regimens and drug-drug interactions)

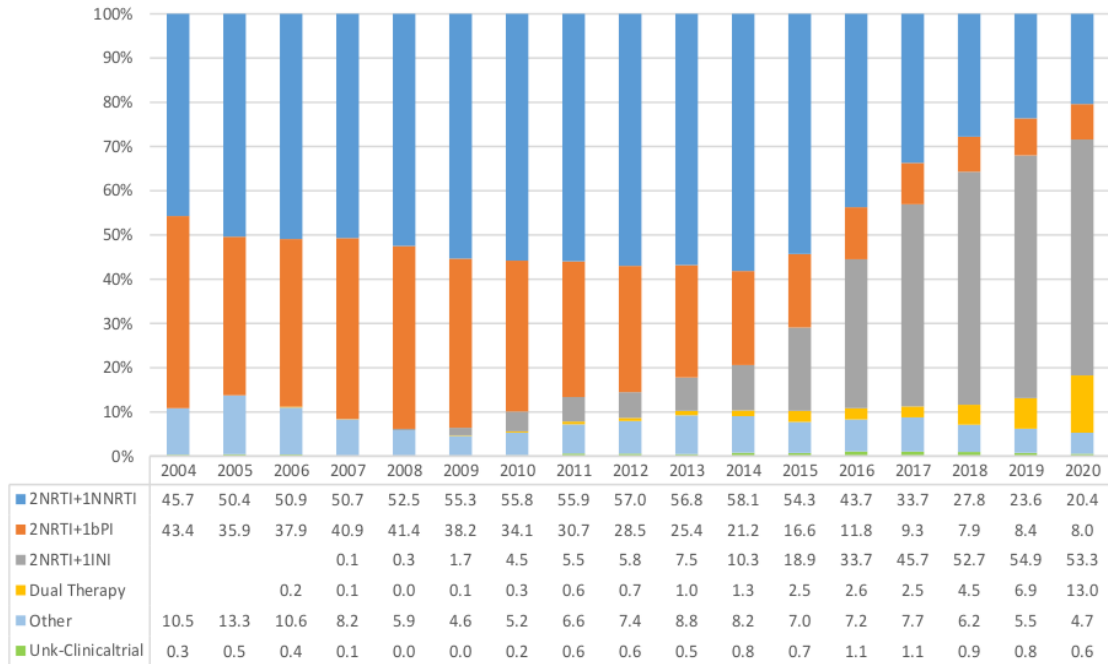
**Figura 4:** terapie di prima linea validate dalle linee guida EACS

Risulta utile dire che recentemente le formulazioni *SDR* sono le più usate e dall'uscita nel mercato di TAF/FTC questi farmaci costituiscono il 63.7% e 54.9%, rispettivamente, del backbone della triplice di soggetti *naïve* e TEP. Nei pazienti *naïve* si è verificata una riduzione importante nella prescrizione dei PIs (35%  $\rightarrow$  9%), riduzione risultata minore per gli NNRTIs (27%  $\rightarrow$  15%) (32). Di seguito due tabelle prese da uno studio spagnolo (33) con oltre 10000 pazienti studiati, in cui si mostra rispettivamente le differenti terapie assegnate negli anni a pazienti *naïve* e pazienti totali (*naïve patients* + treatment-experienced patients).



(A)

**Figura 5:** percentuale dei vari farmaci assegnati nelle terapie di prima linea in pazienti naïve, dal 2004 al 2020



(B)

**Figura 6:** percentuale dei vari farmaci assunti negli anni dai pazienti studiati

#### 5.4 Strategie per la modificazione del regime terapeutico nei pazienti in soppressione virologica

La soppressione virologica è definita come la rilevazione di HIV-RNA <50 copie/mL per almeno 6 mesi consecutivi. Le motivazioni che portano ad uno *switch* terapeutico sono le seguenti:

- 1) Tossicità sopravvenuta in terapia HAART
- 2) Prevenzione della tossicità a lungo termine
- 3) Prevenzione delle interazioni farmacologiche
- 4) Desiderio di gravidanza
- 5) Invecchiamento e/o comorbidità che rendano desiderabile l'introduzione di farmaci con minori effetti avversi
- 6) Semplificazione della terapia, nell'ottica del miglioramento della compliance, della riduzione dei costi, degli effetti avversi e delle interazioni farmacologiche.
- 7) Necessità di protezione nei confronti di HBV, in contesti di nuova infezione o in cui la riattivazione sia possibile
- 8) Fortificazione del regime terapeutico: per prevenire il fallimento virologico, ad esempio in pazienti che dimostrano un'aderenza sub-ottimale, è raccomandato lo switch ad una terapia con farmaci a più alta barriera genetica alle mutazioni.
- 9) Riduzione dei costi: molto importante visto che il costo delle terapie HAART impatta per almeno un 60% nella gestione del paziente PLWH, ed altrettanto importante nei paesi a limitate risorse (34).

Importante è anche segnalare che non è raccomandato lo switch terapeutico nel caso di un paziente che assuma una terapia non più ritenuta come *preferibile* nel caso in cui venga ben tollerata e continui a dimostrare l'efficacia e la sicurezza desiderata. Al contrario un altro principio da segnalare è che la soppressione virologica non deve essere subordinata alla tollerabilità di un regime terapeutico.

Nel management dello switch terapeutico è essenziale studiare attentamente la storia clinica e farmacologica del paziente, ponendo attenzione ai fallimenti pregressi, ai test di resistenza eseguiti, ad eventuali fallimenti delle profilassi, ai problemi eventualmente insorti nei differenti regimi terapeutici ed alle potenziali criticità in termini di politerapia e comorbidità.

Nel caso di un primo fallimento terapeutico il rischio di *virological failure* in seguito allo switch terapeutico è molto basso, mentre maggiore attenzione va posta nel caso di pazienti con diversi fallimenti pregressi.

Lo switch inter-classe terapeutica è solitamente sicuro in assenza di resistenze specifiche e se un'uguale potenza farmacologica viene garantita, lo switch *cross-class* è sicuro se si passa ad un farmaco con uguale o superiore barriera genetica alle resistenze ed in assenza di resistenze specifiche.

Se si prevede di interrompere il trattamento con TDF e di non sostituirlo con TAF risulta necessario accertarsi nuovamente dello stato sierologico del paziente riguardo a HBV, ed in caso di sierologia compatibile con infezione cronica da HBV il Tenofovir non dovrebbe esser rimosso dalla HAART.

In seguito allo switch è raccomandato un follow-up ravvicinato, dopo circa un mese.

La semplificazione da un regime di triplice terapia HAART ad un regime di *dual therapy* è una delle possibili opzioni di cambiamento del regime terapeutico, ed è eseguibile solo se il paziente ha mantenuto una soppressione virologica soddisfacente nei sei mesi precedenti, se non vi è evidenza di resistenze specifiche e se risulta immune ad HBV (per infezione pregressa e risolta oppure per vaccinazione). I regimi raccomandati proposti sono i seguenti: **DTG+RPV**, **XTC+DTG**, **XTC+DRV/b**, **Long-acting CAB+RPV (iniezioni intramuscolari due volte al mese)** mentre i regimi alternativi supportati da minori evidenze scientifiche sono: **DRV/b + RPV e DRV/b + DTG**.

Infine i regimi non raccomandati sono i seguenti: le monoterapie (con PI/b o con DTG), le combinazioni esclusive con NRTIs siano esse doppie o triple, e le seguenti combinazioni specifiche (*1 NRTI + 1 NNRTIs*, *1 NRTI + 1 unboosted PIs*, *1 NRTIS + RAL*, *MVC + RAL*, *PI/b + MVC*, *ATV/b + RAL*)

### 5.5 Gestione delle risposte virologiche non ottimali

Le situazioni di controllo non ottimale della viremia e la loro risoluzione raccomandata sono le seguenti:

1) Per fallimento virologico si intende l'incapacità di ottenere una carica virale inferiore alle 50 copie/mL entro sei mesi dall'inizio della terapia HAART, fatta eccezione per pazienti con viremia baseline oltre le 100000 copie/mL in cui un maggior tempo può essere richiesto. Risulta raccomandato effettuare (o effettuare nuovamente) un test di resistenza nei confronti dei farmaci NRTIs, NNRTIs e PIs (valutare inoltre se richiedere anche il test di resistenza per INSTIs), valutare l'aderenza (anche con *Therapeutic Drug Monitoring* se necessario) e valutare o rivalutare eventuali interazioni farmacologiche. Lo switch terapeutico è fortemente raccomandato qualora le valutazioni precedentemente descritte lo suggerissero.

2) Per *Viral Blips*, o rebound virologico, si intende una singola rilevazione di HIV-RNA superiore alle 50 copie/mL (ma inferiore alle 200 copie/mL) intervallate da viremie non

rilevabili in pazienti precedentemente undetectable. In questo caso, come anche nel caso di rilevazione di singola viremia >200 copie/mL seguita da viremie non rilevabili, la modifica del regime terapeutico risulta opzionale, mentre risulta più importante indagare la compliance, effettuare controlli successivi ravvicinati per verificare se tali eventi si ripetono ed eventualmente effettuare nuovi test di resistenza se necessario.

3) Per pazienti con determinazioni viremiche >200copie/mL saltuariamente ripetute ed intervallate da viremie non rilevabili il cambiamento del regime terapeutico è moderatamente raccomandato, è raccomandato accertare l'aderenza alla terapia, effettuare controlli ravvicinati ed eventualmente rieffettuare un test di resistenze.

4) Per pazienti con viremia stabilmente >200 copie/mL il cambiamento del regime, su indicazione dei risultati del test di resistenza, è fortemente raccomandato (35)

## 5.6 PrEP e PEP

I farmaci antiretrovirali possono anche essere efficacemente utilizzati in regime di profilassi, sia post-esposizione che in previsione dell'esposizione al virus, in quei pazienti che desiderino minimizzare i rischi di infezione da HIV esponendosi a comportamenti a rischio (PrEP).

La profilassi post-esposizione è raccomandata sia nel caso di puntura accidentale con aghi precedentemente utilizzati da soggetti HIV positivi (o con sierostato incerto ma con presenza di fattori di rischio per HIV), sia nel caso di rapporti sessuali con soggetti HIV positivi (o con sierostato incerto ma con fattori di rischio per HIV). Nei casi incerti in cui il contatto è avvenuto con un paziente HIV positivo ma in terapia HAART, la PEP va iniziata subito ed eventualmente sospesa una volta accertato che il soggetto *fonte* dimostri una carica virale non rilevabile.

È necessario, da linee guida EACS, valutare la presenza di malattie sessualmente trasmissibili, testare il soggetto fonte per HBV, HCV, effettuare un test di resistenza se il soggetto fonte è in HAART ma presenta viremia, cominciare la PEP entro le 48-72 ore (idealmente entro le 4 ore dall'esposizione), proporre eventualmente un sistema di contraccezione d'emergenza e garantire al paziente esposto un follow-up che comprenda le seguenti accortezze:

- ripetizione della sierologia HIV, HBV, HVC ed il test di gravidanza (ed eventualmente un nuovo test per STIs) entro 48 ore.
- Rivalutazione delle indicazioni alla prosecuzione della PEP entro 48-72 da parte di esperti
- Valutazione della tollerabilità del regime PEP.
- Determinazione delle transaminasi, HCV-PCR e sierologia per HCV dopo un mese se il soggetto fonte è noto essere HCV positivo.
- Ripetere la sierologia per HIV nel soggetto esposto e trattato con PEP dopo 6-8 settimane
- Discutere l'opportunità di cominciare un regime di profilassi pre-esposizione.

La PEP deve durare 4 settimane (salvo se non venga deciso di interromperla precocemente per il decadimento delle indicazioni) ed i regimi raccomandati sono i seguenti: ***TDF/FTC o TAF/FTC + RAL bid o qd oppure DRV/b qd***. I regimi alternativi sono i seguenti: ***TDF/FTC o TAF/FTC + DTG qd oppure TAF/FTC/BIC***.

La Profilassi Pre-Esposizione (PrEP) è destinata a quei soggetti che desiderano esporsi a situazioni a rischio di contrarre l'infezione da HIV minimizzandone al contempo il rischio. La PrEP conferisce a tal proposito un'alta protezione contro l'infezione, anche se non conferisce nessuna protezione contro le altre STIs e non protegge dall'infezione con ceppi virali aventi mutazioni per i farmaci somministrati.

Prima di assumere la PrEP è necessario valutare la sierologia HBV del paziente, effettuare un test per la rilevazione di HIV di quarta generazione (e ripeterlo ad un mese ed in seguito ogni tre mesi dall'inizio della PrEP) e valutare la funzionalità renale e lo stato del metabolismo osseo prima di somministrare la PrEP se si desidera includere in tale regime terapeutico il Tenofovir Disoproxil Fumarato. È raccomandato infine il controllo dell'aderenza terapeutica ad un mese dall'inizio della terapia.

La terapia va assunta da almeno 7 giorni ad almeno 7 giorni dopo l'esposizione, può essere assunta *on demand* esclusivamente per gli uomini (con differente posologia), e prevede l'assunzione di TDF/FTC 300mg/200mg una volta al giorno. Per quanto riguarda il regime TAF/FTC esiste un trial che incontra i requisiti di non inferiorità nei gruppi MSM e donne transgender, non sono disponibili dati riguardanti le altre categorie di rischio (22).

### **5.7 Trattamento coinfezione con HBV e HCV**

*Trattamento della coinfezione con HBV.* Nella HAART dei pazienti co-infetti è raccomandata la presenza di farmaci altamente efficaci nei confronti di HBV come TDF o TAF a meno di controindicazioni a tali farmaci. La terapia non dovrebbe essere interrotta per via del rischio di importanti *hepatitis flares* e scompenso epatico con riattivazione di HBV, anche se è possibile interrompere la terapia anti-HBV in modo cauto una volta confermata la sieroconversione degli anticorpi anti-HBs, solamente nei soggetti non cirrotici.

Nei soggetti cirrotici e con bassa conta delle cellule CD4+ è necessario porre molta attenzione, nei primi mesi in seguito all'inizio del trattamento, alla sindrome da ricostituzione immunitaria che potrebbe esitare in un quadro di scompenso epatico con notevole incremento degli enzimi epatici nel sangue.

I pazienti vanno testati ogni 3 mesi nel primo anno ed a seguire ogni 6-12 mesi per gli enzimi epatici, ogni 3-6 mesi nel primo anno ed a seguire ogni 12 mesi per HBV-DNA. La presenza di HBsAg va ricercata ogni 12 mesi fino alla sua non rilevabilità.

Attenzione particolare va posta a quei pazienti in terapia immunosoppressiva che risultano a rischio di riattivazione virale (22)

*Trattamento della coinfezione con HCV.* Tra i PLWH una quota significativa presenta la coinfezione con HCV, facilitata per la condivisione delle vie di trasmissione dei due virus.

Nei pazienti con coinfezione HCV/HIV il trattamento con DAA (direct acting antiviral) è raccomandato per tutti i pazienti indipendentemente dallo stadio di fibrosi epatica, ed i regimi terapeutici sono gli stessi utilizzati per la mono-infezione da HCV. Non è raccomandato il trattamento con Interferone o PIs per via dell'insufficiente efficacia e notevole tossicità, ed è molto importante valutare preventivamente l'interazione tra i farmaci utilizzati nei regimi HAART e quelli utilizzati per il trattamento di HCV.

Il goal terapeutico è il raggiungimento della risposta virale sostenuta, SVR, definita come la non rilevabilità di HCV-RNA (o dell'antigene HCV core se il test di HCV-RNA risultasse non disponibile) dopo 12 settimane dalla fine della terapia. La maggior parte dei pazienti raggiungono la SVR, considerata come cura all'infezione da HCV (22).

In merito al trattamento dei pazienti co-infetti una sfida che il medico deve affrontare è quella dell'interazione farmacologica tra i due regimi terapeutici. Le interazioni sono essenzialmente di natura farmacocinetica, ovvero alterazioni del metabolismo dei farmaci e alterazioni dell'assorbimento. Possono presentarsi, in breve, tre scenari possibili: nel caso di farmaci inibitori enzimatici è possibile riscontrare aumenti dei livelli dei farmaci anti-HCV, con tossicità epatica, un aumento dei livelli dei farmaci ART, con aumento dell'incidenza di tossicità a questi associati, oppure la diminuzione dei livelli dei farmaci anti-HCV con ridotta efficacia terapeutica e rischio di fallimento del trattamento nel caso di somministrazione di farmaci anti-HIV che agiscano come induttori enzimatici. Non si verifica invece mai la diminuzione dei livelli dei farmaci ART in quanto tra i farmaci DAAs non vi sono induttori enzimatici (12).

### **5.8 Descrizione e gestione delle comorbidità in relazione alla terapia antiretrovirale.**

L'introduzione della terapia antiretrovirale altamente attiva (HAART) ha notevolmente ridotto la mortalità nei PLWH e ne ha di molto aumentato l'aspettativa di vita ma proprio per questo motivo si sono col tempo notate delle altre criticità nella gestione a lungo termine di tali pazienti quali interazioni farmacologiche rilevanti ed effetti avversi a carico di diversi organi. Tali problematiche richiedono una gestione ottimale dei pazienti con infezione cronica da HIV sia

al fine di evitare fallimenti terapeutici e sospensioni del trattamento per via di tossicità importanti sia per non aggravare o indurre patologie organiche o comorbidità. È altresì importante l'accurata scelta del regime farmacologico nei PLWH ponendo attenzione alla specifica anamnesi patologica prossima e farmacologica di ciascun paziente.

La percentuale di cambiamento del regime terapeutico dovuto all'insorgenza di eventi avversi e dunque di tossicità da ART è molto bassa attualmente, persino inferiore al 5% secondo un grande studio italiano (32), ma la causa predominante che guida lo switch terapeutico risulta essere proprio l'ottimizzazione della terapia. L'ottimizzazione viene richiesta, oltre per motivi di compliance, qualità di vita e costi, anche per far fronte ad una migliore gestione delle comorbidità del paziente. A questo proposito si tratteranno le principali comorbidità e le relative gestioni nei pazienti in terapia HAART.

*Patologia epatica.* Numerosi farmaci e classi di farmaci, quasi tutti, possono dare un certo grado di epatotossicità, venendo questi metabolizzati prevalentemente a livello epatico, ma è noto (14,26) che anche l'HIV stesso sia intrinsecamente in grado di causare una certa epatotossicità, indipendentemente dalla terapia utilizzata, per via di numerosi meccanismi di tossicità diretta ed indiretta. Pertanto nonostante la terapia, come già detto precedentemente, il rischio della progressione della patologia epatica (NAFLD, cirrosi ed HCC) rimane aumentato (14).

Una condizione associata al trattamento con NRTIs è l'acidosi lattica, che è riscontrabile secondo alcuni studi tra il 10% ed il 20% dei pazienti in trattamento a lungo termine con regimi contenenti NRTIs (26). Il meccanismo patogenetico responsabile di questo fenomeno sembra essere l'utilizzo dei farmaci che interagiscono con la DNA polimerasi  $\gamma$  mitocondriale, con riduzione della funzione mitocondriale e della ossidazione degli acidi grassi. Ciò comporta un accumulo di piruvato e NADH, con maggior conversione del primo in acido lattico, e riduzione dell'ossidazione degli acidi grassi con accumulo di trigliceridi che risultano tossici per l'epatocita. A contribuire al danno epatico vi sono anche le specie reattive dell'ossigeno (ROS), in un contesto di ridotta autofagia, aumentato stimolo apoptotico e progressione della steatosi epatica e della patologia epatica in generale.

È importante, nel trattamento con questa classe farmacologica, porre attenzione a fattori di rischio pre-esistenti che possano peggiorare il quadro epatico e metabolico, come ad esempio la presenza di obesità, sindrome metabolica e la carenza di cofattori e vitamine.

Anche gli inibitori della proteasi (PIs) sono caratterizzati da epatotossicità, con aumentato rischio di elevazione delle transaminasi nei soggetti HBV o HCV coinfecti di oltre due volte (26). Il farmaco più coinvolto in questa classe è il Ritonavir, per via della sua forte inibizione del citocromo CYP3A4.

I PIs inoltre causano notevoli alterazioni metaboliche quali dislipidemia, iperglicemia ed insulino-resistenza, accumulo di grasso viscerale, alterazioni che contribuiscono alla patogenesi della steatosi epatica. Ciò vale maggiormente per i primi inibitori di proteasi, specialmente per il Ritonavir per la sua forte inibizione del citocromo CYP3A4 (con aumentato rischio, inoltre, di interazioni farmacologiche), mentre non si nota con gli INSTIs.

Anche i NNRTIs (specialmente NVP e EFV) ed i NRTIs sono associati ad epatotossicità, per i motivi sopradescritti, legati all'interazione con la DNA polimerasi  $\gamma$ .

Gli INSTIs invece rappresentano la classe farmacologica più sicura a livello epatico, con interazioni farmacologiche trascurabili e ridotti effetti avversi epatici.

Ulteriore attenzione va riservata alle potenziali interazioni farmacologiche che possono verificarsi nei soggetti che assumono una terapia anti-HCV unitamente ad una terapia HAART o altre terapie per altre patologie, per via del notevole rischio di interazioni farmacologiche (l'EFV è un induttore del CYP3A4, il RTV ne è un inibitore, alcuni farmaci DAA tra cui Paritaprevir e Ritonavir possono essere inibitori ma mai induttori enzimatici), mentre la terapia delle coinfezioni HBV/HIV non risulta problematica da questo punto di vista.

*Patologia metabolica.* Varie classi farmacologiche di ART sono associate a disturbi metabolici talvolta significativi. Gli inibitori di proteasi (PIs) possono causare una forma di diabete mellito clinicamente simile alla forma di diabete tipo 2 in una piccola percentuale di pazienti (fino al 6%), ma molti più pazienti possono sperimentare insulino-resistenza. Sembra che anche l'HIV stesso possa contribuire direttamente a questa condizione attraverso un insulto diretto alle cellule beta del pancreas (26). I PIs, ma anche i NRTIs, causano frequentemente una qualche forma di lipodistrofia, con stime che indicano il coinvolgimento di oltre il 50% dei pazienti. I pazienti che presentano una redistribuzione del tessuto adiposo con aumento della componente adiposa centrale sono maggiormente a rischio per comorbidità cardiovascolari e metaboliche. Secondo vari studi (26,36–38) tra i pazienti in ART quelli che sviluppano la sindrome metabolica si attestano tra il 20 ed il 34%, la maggior parte dei quali in terapie contenenti PIs. I PIs sono anche associati a dislipidemia, con prevalenza di questa condizione nel 70% dei pazienti trattati (sebbene queste percentuali siano ridotte con i nuovi PIs). La dislipidemia associata a questi farmaci comprende aumento dei trigliceridi, aumento del colesterolo LDL e riduzione di quello HDL.

Tra i farmaci della classe NRTIs il TAF è maggiormente associato ad alterazioni metaboliche come incremento ponderale e dislipidemia (specie se in associazione con INSTIs), con aumento di alcuni parametri lipidici ma non di altri, come ad esempio l'aumento del colesterolo totale e anche colesterolo HDL (39). Il passaggio da regimi contenenti TAF o altri farmaci ad un regime

contenente DTG o ad un regime di 3TC/DTG è risultato in grado di migliorare tali parametri lipidici secondo lo studio *TANGO* e il *BI-LIPID study* (40,41)

La classe farmacologica degli inibitori dell'integrasi (INSTIs) è associata ad aumento ponderale e aumento del tessuto adiposo addominale con peggioramento del quadro metabolico. Dolutegravir (DTG) è inoltre in grado, in vitro, di antagonizzare il recettore M4C alterando l'omeostasi energetica (42).

Evidenze mostrano, infine, come ci sia un maggior rischio di episodi emorragici nei soggetti emofilici che assumono terapia con inibitori di proteasi (26).

*Patologia renale.* Nell'infezione da HIV possono manifestarsi dei danni renali per varie cause. Il coinvolgimento di quest'organo è dovuto infatti alla terapia antiretrovirale, visto che il rene partecipa attivamente al metabolismo ed all'escrezione di numerosi farmaci attivi contro HIV, all'infezione da HIV stessa (HIV-associated nephropathy, HIVAN, e HIV immuno-complex kidney disease, HIVICK) ed ai disturbi metabolici legati all'infezione da HIV. Anche la coinfezione con HBV o con HCV, particolarmente frequente nei PLWH, risulta associata ad un maggior danno renale, come anche la pre-esistenza di patologie renali o fattori di rischio per nefropatia o la contemporanea assunzione di farmaci nefrotossici (43,44).

I quadri clinici riscontrabili sono rappresentati dalla patologia renale cronica, alterazioni dell'equilibrio acido-base, l'acidosi lattica, la tubulopatia prossimale, la nefrolitiasi, la sindrome di Fanconi ed il danno renale acuto. I farmaci più associati a patologia renale cronica risultano essere il Tenofovir Disoproxil Fumarato (TDF), l'Indinavir e l'Atazanavir.

La patogenesi implicata nella patologia renale vede il contributo della tossicità diretta di alcuni farmaci ARV a livello tubulare, reazioni di ipersensibilità e precipitazione di cristalli insolubili di farmaco nel lume tubulare (45). In particolare il Tenofovir viene escreto attraverso una combinazione di filtrazione glomerulare e secrezione tubulare prossimale (fino al 30%). Numerosi farmaci possono interagire con i trasportatori implicati nella secrezione tubulare attiva, e ciò può essere causa dell'accumulo del Tenofovir all'interno delle cellule tubulari prossimali e quindi la causa di danno renale.

Nello specifico la tossicità da TDF si manifesta all'incirca nell'1% dei soggetti in trattamento (46), mentre è ormai accertato che il profilo di sicurezza renale del profarmaco TAF, Tenofovir Alafenamide Fumarato, sia di gran lunga migliore rispetto a quello del TDF per via della riduzione della concentrazione plasmatica di oltre il 90% a parità di efficacia terapeutica (28). In particolare la sostituzione di TDF con TAF ha dimostrato miglior sicurezza dal punto di vista osseo e renale, ad esempio con riduzione dei tassi di incidenza di tubulopatia prossimale (0.34%

vs. 0%) e riduzione delle percentuali di sospensione della terapia per effetti avversi renali (0.47% vs. 0.05%) (28). L'aumentata tossicità di TDF rispetto a TAF può anche essere parzialmente spiegata dal frequente utilizzo di enhancer farmacologici associati alle terapie TDF based: uno studio ha evidenziato come i pazienti in terapia con TDF unitamente ad un boosted PI avessero un rischio di 3.7 maggiore (rispetto ai pazienti in terapia con TDF + NRTIs) di presentare una significativa riduzione della funzionalità renale (47).

Tale tossicità si manifesta però con maggior frequenza in quei soggetti con pre-esistente patologia renale, con infezione da HIV mal controllata, con nadir delle cellule CD4+ <200cell/mm<sup>3</sup>, con età più avanzata e con concomitante assunzione di farmaci nefrotossici.

Alla luce di ciò risulta importante lo screening iniziale di tutti i pazienti per valutare un'eventuale patologia renale pre-esistente e valutare le criticità che possono aumentare il rischio di nefrotossicità in seguito a terapia ART. Risulta inoltre importante valutare e quantificare la presenza di microalbuminuria nei pazienti affetti da diabete mellito ed effettuare dei follow-up ravvicinati in quei pazienti maggiormente a rischio per patologia renale, come quei soggetti con nadir delle cellule CD4+ <200 cellule/mm<sup>3</sup>, pazienti affetti da diabete mellito, ipertensione arteriosa e coinfezioni con virus epatotropici.

*Patologia cardiovascolare.* Tra la patologia cardiovascolare, l'infezione da HIV ed il relativo trattamento c'è un legame piuttosto intricato. I meccanismi di danno sono svariati, dalla comparsa di condizioni note per essere dei fattori di rischio cardiovascolari che la terapia ART può comportare, all'esacerbazione dei fattori di rischio pre-esistenti, alla maggior prevalenza di alcuni fattori di rischio come il fumo di sigaretta tra i PLWH, all'effetto diretto di HIV sullo stato proinfiammatorio ed alla sinergia tra HIV e ART nel comportare alterazioni metaboliche, mitocondriali, ossidative.

Abacavir sembra essere il farmaco maggiormente associato ad aumento del rischio CV, forse per un importante effetto piastrinico: a tal proposito le conoscenze in merito sono ancora discordanti. Uno studio, lo studio *STEAL*, non ha rilevato incremento di biomarker infiammatori, insulino-resistenza ed alterazione della funzione endoteliale a 48 mesi comparando un regime contenente Abacavir (ABC/3TC) ed un regime composto da FTC/TDF, mentre vari altri studi hanno notato una significativa attivazione piastrinica nell'utilizzo di Abacavir (48).

Tutte le classi farmacologiche, ad eccezione degli INSTIs (anche se l'aumento ponderale ad essi correlato richiederebbe altri studi per accertarne il reale peso sulla patologia cardiovascolare) e degli inibitori dell'ingresso virale (CCR5 inhibitors), sono associate ad un aumento del rischio cardiovascolare, con incremento di tale rischio, incluso il rischio di infarto

del miocardio e eventi cerebrovascolari, di circa 2 volte dovuto agli effetti metabolici più o meno marcati associati quasi invariabilmente a tutti i farmaci ARV (49,50).

Gli inibitori di proteasi (PIs) in particolare possono avere effetti sfavorevoli dal punto di vista cardiovascolare, il che rende sconsigliabile il trattamento con LPV/r o DRV/r nei pazienti che presentino patologie cardiache o importanti fattori di rischio.

Importanti eccezioni da notare riguardano la Nevirapina (NVP) in quanto risulta aumentare il colesterolo HDL maggiormente rispetto a quanto aumenti il colesterolo LDL e si è dimostrata non causare insulino-resistenza e, tra gli inibitori di proteasi, l'Atazanavir, con ridotto rischio cardiovascolare rispetto ai farmaci della stessa categoria probabilmente per via dell'iperbilirubinemia indiretta riscontrata in questi pazienti che, in quanto agente antiossidante, sembra conferire una qualche protezione nei confronti della patologia aterosclerotica.

Terapie che prevedano associazioni di INSTIs e NNRTIs potrebbero quindi essere più sicure da un punto di vista cardiovascolare.

È importante infine sottolineare che alcuni vecchi farmaci appartenenti alla classe NRTIs come la Stavudina, Zidovudina e Didanosina inducono modificazioni lipodistrofiche che perdurano anche fino a 9 anni (25) dopo il termine o la sostituzione del trattamento, rendendo quindi necessario per lo specialista porre attenzione all'anamnesi farmacologica del paziente.

*Patologia ossea.* Per quanto riguarda la patologia ossea, numerose classi farmacologiche sono associate ad una maggior incidenza, per via di diversi meccanismi. Gli inibitori di proteasi (PIs) ad esempio sembrano in grado di inibire la formazione di nuovo tessuto osseo (stimolando l'attività degli osteoclasti o inibendo quella degli osteoblasti) e sembrano in grado di interferire con l'idrossilazione della vitamina D (26).

Il TDF invece risulta essere il farmaco più in grado di compromettere la salute ossea, attraverso un danno tubulare prossimale, con alterazione dell'idrossilazione renale della vitamina D ed ipofosfatemia: il tasso di demineralizzazione ossea con tale farmaco risulta essere tra il 2% ed il 6% nei primi due anni, valore che però risulta poi stabilizzarsi o ridursi (27).

Nel complesso i pazienti con infezione da HIV risultano più suscettibili a fratture patologiche da osteoporosi, la cui prevalenza in tale popolazione risulta essere fino a 3 volte superiore rispetto alla popolazione generale (51).

Importante è quindi l'individuazione del paziente a rischio elevato per patologia ossea, come indicato dalle linee guida SIMIT del 2017 (35), valutando i fattori di rischio individuali, stimando il rischio effettivo ed effettuando una valutazione individuale di vulnerabilità.

Tra i fattori di rischio classici vi sono l'ipogonadismo, l'ipertiroidismo, la familiarità per fratture di femore, un BMI inferiore a 19 kg/m<sup>2</sup>, l'ipovitaminosi D, il fumo, la sedentarietà e

l'immobilizzazione protratta, delle pregresse fratture per traumi minimi, la menopausa e/o l'amenorrea, l'abuso di alcol e l'utilizzo cronico di steroidi per via sistemica per oltre 3 mesi. Una radiografia morfometrica (con il metodo a due proiezioni) è consigliata in diverse categorie di soggetti, tra cui donne in post-menopausa e uomini con età superiore ai 50 anni che presentino almeno un fattore di rischio specifico (come riduzione della statura di oltre 4 centimetri, anamnesi positiva per fratture patologiche o utilizzo di terapia steroidea cronica), T-score inferiore a determinati cut-off per fasce d'età specifiche e nei pazienti con diagnosi di osteoporosi alla DXA.

È opportuno dosare il PTH ed i livelli di vitamina D (preferibilmente in inverno o primavera), considerare la supplementazione di vitamina D, escludere altre forme di osteoporosi secondaria (anche attraverso lo studio degli indici del metabolismo minerale) visto che l'iperparatiroidismo secondario risulta essere una condizione frequente nei pazienti HIV positivi, come risulta anche raccomandato eseguire una stima del rischio di frattura in tutti i soggetti di età superiore ai 40 anni attraverso l'algoritmo FRAX.

Il trattamento può prevedere la supplementazione di vitamina D, di calcio, la terapia ormonale sostitutiva e farmaci come i bisfosfonati.

La DXA si costituisce come l'esame *gold standard* per lo studio della densità minerale ossea, BMD, parametro che rappresenta il più importante fattore di rischio indipendente per frattura. La DXA è indicata nelle donne in menopausa, negli uomini oltre i 50 anni di età, nei soggetti che presentino un rischio >10% di fratture nei 10 anni successivi (algoritmo FRAX), nei pazienti con storia anamnestica di frattura osteoporotica e nei pazienti che fanno uso di terapia steroidea orale >5mg/die per oltre 3 mesi.

*Patologie psichiatriche.* Alcuni farmaci all'interno della classe dei NNRTIs sono associati alla comparsa o all'esacerbazione di patologie o condizioni psichiatriche, pertanto è necessario porre attenzione a tali effetti avversi. In particolare EFV può indurre depressione, alterazioni del sonno e del contenuto dei sogni e la RPV (rilpivirina) può dare depressione, alterazioni del sonno e ideazione suicidaria (26,52).

## 5.9 Semplificazione

Per semplificazione della terapia si intende la modificazione del regime terapeutico HAART in atto al fine di aumentare la qualità di vita, l'aderenza e ridurre i costi della terapia. Le strategie adottate sono diverse: la riduzione del numero di pillole, come nel passaggio a regimi di cui siano disponibili coformulazioni in una sola pillola (STR) siano essi regimi composti da tre diversi principi attivi o due, la sostituzione di farmaci da assumere in concomitanza dei pasti

con altri indipendenti da essi, la somministrazione di farmaci in posologie meno impegnative come ad esempio una volta al giorno, quattro giorni a settimana (53) oppure addirittura una volta ogni due o quattro settimane. In questo studio sono stati presi in esame pazienti che hanno semplificato la loro terapia di partenza con una terapia two-drug regimen (2DR).

Vari studi affermano che la prevalente motivazione di uno switch terapeutico è proprio l'ottimizzazione/semplificazione della terapia (32,54,55) si è infatti notato un forte incremento nella somministrazione della dual therapy negli ultimi anni, dall'immissione in commercio di queste combinazioni farmacologiche, sia nei pazienti treatment-experienced (TEP) che nei pazienti *naïve*, con percentuali di assunzione di dual therapy rispetto al totale intorno al 20% per entrambi i gruppi (33).

Numerosi key trials si sono succeduti recentemente per dimostrare la non-inferiorità delle varie combinazioni di dual-therapy rispetto alle combinazioni di triplice terapia standard in termini di soppressione virologica ed effetti avversi, e molti *real-world studies* si stanno impegnando a confermare queste evidenze.

Le linee guida EACS suggeriscono differenti regimi a due farmaci nel trattamento dei TEP, mentre un solo regime risulta raccomandato per i pazienti *naïve*. Altri key trial però indicano come diverse altre combinazioni abbiano soddisfatto i criteri di non-inferiorità anche nei pazienti *naïve* rispetto ai consueti regimi a triplice terapia, motivo per cui potranno essere approvate altre combinazioni di duplice terapia in seguito a più ampi studi.

I regimi raccomandati in pazienti TEP, con il presupposto che questi siano in soppressione virologica da almeno sei mesi, che non presentino resistenze specifiche ai farmaci da somministrare e siano immuni a HBV (o vaccinati), sono i seguenti: **DTG+RPV**, **XTC+DTG**, **XTC+DRV/b e Long-acting CAB+RPV (Q4W)**, ovvero ogni due settimane). I regimi supportati da minor grado di evidenza scientifica, sicuri da utilizzare in situazioni in cui sia impossibile avvalersi dei regimi precedentemente elencati sono i seguenti: **DRV/b + RPV**, **DRV/b + DTG**.

Il regime raccomandato invece nei pazienti *naïve* è **XTC + DTG**, utilizzabile in quei pazienti HBsAg negativi, con HIV-RNA inferiore alle 500000 copie/mL e non raccomandato in caso di fallimento di un'eventuale profilassi pre-esposizione. Lo stato dell'arte attuale testimonia anche forti evidenze relative alla combinazione 3TC + boosted PIs, e dati ancora poco definiti riguardo alla combinazione INSTIs + boosted PIs: in futuro nuovi studi potranno estendere la scelta di regimi raccomandati nel trattamento dei pazienti *naïve* (56).

Le figure qui di seguito mostrano i più importanti trials che si sono succeduti negli anni per la valutazione dei regimi a due farmaci nei pazienti naïve-to-treatment (48).

**Table 1** Two-drug regimens for treatment-naïve individuals: key NRTI-sparing trials

Trial (reference)	N	Regimens compared	Outcome
ACTG 5142 <sup>15</sup>	757	EFV + 2 NRTIs LPV/r + 2 NRTIs LPV/r + EFV	Similar virologic efficacy in EFV + 2 NRTIs and LPV/r + EFV, but more cases of resistance in NRTI-sparing regimen
PROGRESS <sup>16</sup>	206	LPV/r + 2 NRTIs LPV/r + RAL	Similar virologic efficacy; less reduction in GFR and BMD in the NRTI-sparing group
NEAT <sup>19,20</sup>	805	DRV/r + 2 NRTIs DRV/r + RAL	Two-drug regimen non-inferior, except in cases of CD4 count <200 cells/mm <sup>3</sup> . When HIV-1 RNA ≥100,000 copies/mL, more INSTI resistance observed with virologic failure
MODERN <sup>25</sup>	797	DRV/r + 2 NRTIs DRV/r + MVC	Study closed early on basis of virologic inferiority of the MVC arm

**Abbreviations:** BMD, bone mineral density; DRV/r, ritonavir-boosted darunavir; EFV, efavirenz; GFR, glomerular filtration rate; INSTI, integrase strand transfer inhibitor; LPV/r, ritonavir-boosted lopinavir; MVC, maraviroc; NRTI, nucleotide/side reverse transcriptase inhibitor; RAL, raltegravir.

**Figura 7: vari trials per pazienti naïve-to-treatment (parte 1)**

**Table 2** Two-drug regimens for treatment-naïve individuals: key single-NRTI trials

Trial (reference)	N	Regimens compared	Outcome
KALEAD <sup>26</sup>	152	LPV/r + 2 NRTIs LPV/r + TDF	Underpowered study with high discontinuation rates in both groups, >40%, and viral load suppression just above 50% in both groups
GARDEL <sup>27</sup>	426	LPV/r + 2 NRTIs LPV/r + 3TC	Viral suppression similar in both arms; less toxicity and improved tolerability in the 3TC-only arm
ANDES <sup>28</sup>	145	DRV/r + TDF/FTC DRV/r + 3TC	Similar virologic efficacy and tolerability
PADDLE <sup>30</sup>	20	DTG + 3TC	Proof-of-concept study; 90% viral suppression at week 48; no resistance
ACTG 5353 <sup>31</sup>	120	DTG + 3TC	Week 24 viral suppression was 90%. Enrolled participants with HIV-1 RNA up to 500,000 copies/mL. One participant developed integrase and NRTI resistance
GEMINI-I and -2 <sup>32</sup>	1,433	DTG + TDF/FTC DTG + 3TC	Week 48 data show non-inferiority, including those with HIV-1 RNA > 100,000 copies/mL. No resistance

**Abbreviations:** 3TC, lamivudine; DRV/r, ritonavir-boosted darunavir; FTC, emtricitabine; DTG, dolutegravir; LPV/r, ritonavir-boosted lopinavir; NRTI, nucleotide/side reverse transcriptase inhibitor; TDF, tenofovir disoproxil fumarate.

**Figura 8: vari trials per pazienti naïve-to-treatment (parte 2)**

*Combinazioni e key trials nei TEP (56).* Nelle tabelle qui presentate è possibile ripercorrere i più importanti *key trials* alla base delle raccomandazioni in termini di duplice terapia nei pazienti TEP. Si tratteranno brevemente le combinazioni raccomandate menzionando il *key trials* più importante a supporto, eventuali effetti avversi ed eventuali criticità.

**Table 4** Two-drug regimens for maintenance: key single-NRTI trials

Trial (reference)	N	Regimens compared	Outcome
OLE <sup>51</sup>	250	LPV/r + 2 NRTIs LPV/r + 3TC	Virologic suppression >86% in both arms, meeting non-inferiority
ATLAS-M <sup>52</sup>	266	ATV/r + 2 NRTIs ATV/r + 3TC	Non-inferiority met; no resistance seen
SALT <sup>53,54</sup>	286	ATV/r + 2 NRTIs ATV/r + 3TC	Non-inferiority met; no resistance seen
DUAL GESIDA <sup>55</sup>	249	DRV/r + 2 NRTIs DRV/r + 3TC	Non-inferiority met; no resistance seen
ASPIRE <sup>56</sup>	90	Current three-drug regimen DTG + 3TC	Virologic suppression of 91% in the two-drug arm at week 48

**Abbreviations:** 3TC, lamivudine; ATV/r, ritonavir-boosted atazanavir; DRV/r, ritonavir-boosted darunavir; DTG, dolutegravir; LPV/r, ritonavir-boosted lopinavir; NRTI, nucleotide/side reverse transcriptase inhibitor.

### Figura 9: vari trials per pazienti treatment-experienced (parte 1)

**Table 3** Two-drug regimens for maintenance: key NRTI-sparing trials

Trial (reference)	N	Regimens compared	Outcome
KITE <sup>23</sup>	60	Current three-drug regimen LPV/r + RAL	Maintenance of viral load suppression of 92% at week 48 in NRTI-sparing arm
HARNESS <sup>36</sup>	109	ATV/r + TDF/FTC ATV/r + RAL	Lower virologic suppression in NRTI-sparing arm
MARCH <sup>41</sup>	395	Current three-drug regimen MVC + 2 NRTIs MVC + PI/r	NRTI-sparing arm was inferior
PROBE <sup>43</sup>	60	PI/r + 2 NRTIs DRV/r + RPV	Proof-of-concept study. At week 48, 96.7% in RPV arm still suppressed
LATTE <sup>45</sup>	243	CAB 10 mg + RPV CAB 30 mg + RPV CAB 60 mg + RPV EFV + 2 NRTIs	Week 48 data showed 82% suppression in CAB group and 71% in EFV group. CAB 30 mg was shown to be optimal
LATTE-2 <sup>46</sup>	286	CAB 30 mg + 2 NRTIs LA CAB + LA RPV every 4 weeks LA CAB + LA RPV every 8 weeks	Similar continued virologic suppression at week 32 and week 96. Injectables found to be well tolerated
SWORD-I and -2 <sup>49</sup>	1,024	Current three-drug regimen DTG + RPV	In pooled analysis, 95% DTG + RPV maintained viral suppression. Met non-inferiority

**Abbreviations:** ATV/r, ritonavir-boosted atazanavir; CAB, cabotegravir; DRV/r, ritonavir-boosted darunavir; EFV, efavirenz; LA, long-acting; LPV/r, ritonavir-boosted lopinavir; MVC, maraviroc; NRTI, nucleotide/side reverse transcriptase inhibitor; PI/r, ritonavir-boosted protease inhibitor; RAL, raltegravir; RPV, rilpivirine; TDF/FTC, tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine; DTG, dolutegravir.

### Figura 10: vari trials per pazienti treatment-experienced (parte 2)

#### Analisi dei regimi raccomandati.

**1) DTG+RPV:** gli studi più importanti a supporto di questa combinazione sono rappresentati dai key trials di fase III denominati *Sword I* e *Sword II* (56,57). In questi due studi di identico design, multicentrici e randomizzati, si sono confrontati due gruppi di pazienti *TEP*, rispettivamente al primo regime di HAART ed al secondo regime di HAART ovvero con un fallimento terapeutico progressivo. I due bracci dello studio prevedevano un gruppo di pazienti che proseguiva con una qualunque tripla terapia ed un gruppo in cui si passava a DTG + RPV. Il primo braccio prevedeva uno switch terapeutico alla 52esima settimana, passando a DTG+RPV. I risultati di questi due studi, con una numerosità oltre il migliaio di pazienti,

confermano la non inferiorità del trattamento con duplice terapia in termini di soppressione virologica ad almeno 48 settimane ed anche una sovrapponibile tollerabilità dei regimi terapeutici tra i due bracci dello studio, ad eccezione di una maggior comparsa di sintomi neuropsichiatrici nel braccio di studio rispetto al controllo (77% vs 71% nello studio SWORD) (58).

Di questa combinazione esiste la formulazione STR, con nome commerciale Juluca, approvata nel 2017 dalla FDA e nel 2019 dall'AIFA.

**2) XTC + DTG:** questa combinazione è supportata dai grandi studi di fase III *Gemini I* e *Gemini II*, eseguiti su pazienti *naïve*, ma è anche supportata da un importante key trial, lo studio *TANGO*, per l'utilizzo di quest'opzione come mantenimento nei TEP. Prima dello studio *TANGO* è stato lo studio *ASPIRE* a porre le basi per questa evidenza scientifica, studio in cui venivano randomizzati 90 pazienti in due bracci, con rispettivamente un regime di triplice terapia standard ed un 2DR con DTG+3TC: i risultati di *ASPIRE* hanno soddisfatto i criteri di non inferiorità del braccio in semplificazione rispetto all'altro in triplice terapia a 48 settimane (59). Lo studio *TANGO* (56,60), ancora in corso, ha arruolato oltre 700 pazienti, con criteri ben definiti di inclusione, e li ha divisi in due bracci con triplice terapia TAF-based e DTG+3TC rispettivamente. Alla 144 settimana il braccio di controllo eseguirà lo switch a duplice terapia. I risultati sono disponibili fino alla 144esima settimana e dimostrano la non-inferiorità del braccio in studio rispetto al braccio di controllo.

A livello di tollerabilità lo studio *GEMINI* dimostra una simile frequenza di effetti avversi nei due bracci dello studio con migliori biomarker urinari, renali e ossei nel braccio di studio rispetto al controllo. Lo studio *TANGO* in cui si valutava la rimozione di TAF dalla triplice terapia ha inoltre evidenziato un miglior profilo lipidico e renale nei pazienti del braccio di studio rispetto a quello di controllo.

Di questa combinazione esiste la formulazione STR, con nome commerciale Dovato, approvata nel 2017 dalla FDA e nel 2019 dall'AIFA.

**3) XTC+DRV/b:** tale combinazione è validata dall'importante studio *DUAL GESIDA*, randomizzato e multicentrico con circa 250 pazienti studiati che ha confrontato un regime di triplice terapia comprendente DRV/r (+ altri 2 NRTIS) con un regime di duplice terapia con DRV/r+XTC. Lo studio ha confermato la non-inferiorità del braccio di studio rispetto a quello di controllo in termini di soppressione virologica a 48 settimane e non ha evidenziato la comparsa di resistenze nel braccio di studio.

Per quanto riguarda la tollerabilità, lo studio *DUAL GESIDA* ha evidenziato simili tassi di incidenza di effetti avversi nei due bracci in studio, con lieve aumento del profilo lipidico e della clearance della creatinina nel braccio in studio, verosimilmente per la rimozione molto frequente di TDF nei regimi a due farmaci.

Per questa combinazione non esiste, al momento, una formulazione STR.

#### *Analisi dei regimi alternativi.*

**1) DRV/b + RPV:** per quanto riguarda invece questa combinazione, annoverata tra i regimi alternativi che godono di evidenza scientifica, è lo studio *PROBE II* a supportare la non-inferiorità di tale regime rispetto ad un regime di triplice terapia (con DRV/r + 2NRTIs). Il braccio in studio dimostra simile risposta virologia rispetto al braccio di controllo alla 24esima settimana (48,61).

Il braccio di studio ha mostrato un lieve aumento nella comparsa di effetti avversi rispetto al braccio di controllo, ma altri studi saranno necessari per capire la portata clinica di questa osservazione.

Per questa combinazione non esiste, al momento, una formulazione STR.

**2) DRV/b + DTG:** questa combinazione è stata studiata nel key trial *DUALIS*, in cui si sono confrontati il braccio DRV/r+DTG ed il braccio con triplice terapia contenente DRV/r. I risultati indicano un similare controllo virologico nei due gruppi a 48 settimane, una simile tollerabilità e con promettenti studi di real-world a supporto (62,63).

Per questa combinazione non esiste, al momento, una formulazione STR.

## **6. Possibili criticità dei regimi 2DR e Research Gap Areas**

Nonostante la sicurezza in termini di controllo virologico e tollerabilità dei regimi a due farmaci sia ormai assodata vi sono dei dubbi che necessitano di ulteriori studi o di tempi di studio più ampi.

Una prima criticità è rappresentata dall'incertezza riguardo al controllo dell'attivazione immunitaria da parte dei regimi a duplice terapia. Vi sono diversi studi che hanno rilevato un simile profilo infiammatorio, in termine di biomarker infiammatori e produzione di citochine, tra i 2DR ed i 3DR, ma pochi sono gli studi che prendono in considerazione l'HIV-DNA e che indagano il reservoir virale (48). Alleviare la pressione farmacologica nei confronti di HIV potrebbe esitare in una maggior replicazione residua anche in condizioni di undetectability, con peggioramento del quadro clinico a lungo termine e maggior rischio di fallimento virologico ed insorgenza di resistenze a lungo termine (79,81). In particolare uno studio (82) dimostra come

una maggior attivazione linfocitaria è stata osservata in pazienti in monoterapia con inibitori di proteasi rispetto ai pazienti in regimi a tre farmaci ed un altro (83) dimostra come un peggior recupero del rapporto CD4+/CD8+ si è notato nei pazienti in duplice terapia rispetto ai pazienti in triplice.

A tal proposito non è ancora noto se i regimi a duplice terapia garantiscono una penetrazione nei tessuti “santuari” (come sistema nervoso centrale, organi genitali e tessuto linfoide) comparabile con quella garantita dai regimi di triplice terapia: ad esempio negli studi *SWORD I e II* si sono notati maggiori effetti avversi neuropsichiatrici nel braccio in semplificazione, ma non si sa se ciò sia dovuto a minori concentrazioni terapeutici nel SNC oppure a tossicità neurologica dei farmaci utilizzati(79) .

I vari studi a supporto dei regimi semplificati inoltre non garantiscono un’efficacia ottimale a follow-up maggiori alle 144 settimane, poiché recente è l’immissione nel mercato di tali soluzioni a due farmaci: negli anni si spera di veder confermati tali dati circa l’efficacia e la sicurezza dei regimi semplificati. Non è noto inoltre se tali regimi garantiscano l’incapacità di trasmettere il virus ad altre persone (79).

In merito poi alla riduzione degli effetti avversi dei regimi a due farmaci rispetto ai regimi tradizionali ci sono in letteratura evidenze contrastanti e relative a tempi di follow-up di pochi anni. Sebbene alcuni trial a supporto delle combinazioni a due farmaci indichino sovrapponibili tassi di effetti avversi rispetto ai regimi di triplice terapia, nessuno studio ha ad ora confrontato i nuovi regimi a tre farmaci, molto meno tossici (ad esempio con TAF e/o BIC) con i regimi a due farmaci. Uno studio del 2020 su una corte di circa 10000 pazienti (corte *RESPOND*) ha confrontato vari regimi semplificati con regimi tradizionali per valutare se vi fossero differenze statisticamente significative in termini di effetti avversi severi, definiti come insorgenza di AIDS, NADC, eventi cardiovascolari, *end stage liver and renal diseases* e morte. Con gli opportuni aggiustamenti per le caratteristiche baseline dei pazienti nei due gruppi tale studio ha dimostrato che tali eventi risultano sovrapponibili, dimostrando quindi che la terapia a due farmaci è sicura ma non mostra riduzioni significative di tali eventi (84). Tale studio evidenzia anche come i costi di alcuni regimi 2DR non siano inferiori a molti regimi di triplice terapia.

Diversi studi mettono anche in dubbio la non inferiorità dei regimi 2DR rispetto ai 3DR in termini di fallimenti virologici e selezione di resistenze nei pazienti che sperimentano tali fallimenti (79,85).

Un'altra criticità riguarda le popolazioni prese in esame nei vari studi a supporto delle combinazioni a due farmaci, in quanto non rispecchiano l'eterogeneità riscontrabile nei contesti sanitari reali, in termini ad esempio di etnie, età, parametri immuno-virologici e sierologia per virus epatotropici. Inoltre non vi sono studi che abbiano indagato la sicurezza e l'efficacia di tali combinazioni farmacologiche in pazienti gravide, in pazienti con coinfezione con HBV o con TB, in pazienti con viremie baseline molto alte o con nadir delle cellule CD4+ molto bassi.

Un ulteriore criticità è se la 2DR sia in grado di eguagliare la triplice terapia in quel numeroso sottogruppo di pazienti con infezione occulta da HBV (OBI), di cui si sa essere un utilissimo marcatore la positività a HBcAb. È noto, come descritto nel paragrafo "coinfezione con HBV e HCV" che la duplice terapia ha dimostrato fornire un peggior controllo virologico nei soggetti con positività per HBcAb rispetto ai soggetti HBcAb-, ma non vi sono al momento studi che comparino duplice e triplice terapia in questi due sottogruppi di PLWH.

Infine è interessante riportare un importante studio che ha confrontato l'efficacia della duplice terapia (contenente 3TC) in pazienti che presentavano la mutazione M184V per la lamivudina (86). Tale studio ha confrontato il gruppo in 3TC based 2DR con un gruppo di pazienti che assumevano monoterapia con inibitori di proteasi, perché si pensava che la mutazione di M184V potesse rendere la 3TC based 2DR una "monoterapia funzionale". Non si sono notate invece differenze significative nei due gruppi in termini di efficacia (espressa come percentuale di pazienti *free from virological failure*), nei pazienti in 2DR, con mutazione M184V presente o assente, mentre si è evidenziato come la presenza della mutazione aumenti la percentuale di BLIPs virali e dunque offra un controllo virologico subottimale rispetto ai pazienti che non presentano tale mutazione. I pazienti in 2DR hanno dimostrato, come è noto, risultati migliori ai pazienti in monoterapia, ma è interessante evidenziare come tale risultato sia stato presentato anche dai pazienti in 2DR con mutazione M184V.

Una sub-analisi ha mostrato come però nei pazienti con mutazione M184V in soppressione virologica da meno di tre anni la duplice terapia risultasse inferiore rispetto alla controparte senza mutazione. La spiegazione ipotizzata dagli autori per i risultati di questo studio è che la mutazione M184V riduce la fitness virale riducendone la capacità replicativa, inoltre sembra da studi in vitro che tale mutazione conferisca protezione nei confronti dello sviluppo di mutazioni verso INSTIs, rassicurando quindi sull'utilizzo di 2DR quali 3TC+DTG.

In conclusione i regimi a duplice terapia sono risultati sicuri ed efficaci, ma non si dispone di dati a lungo termine e di confronti con i nuovi regimi di triplice terapia. In futuro i profili di

sicurezza ed efficacia di tali regimi semplificati potranno essere migliorati somministrando tali combinazioni a pazienti selezionati, come ad esempio preferendo i soggetti HBcAb- o i soggetti con mutazione M184V in lunga soppressione virologica.

## 7. Terapia Long-acting

*In pazienti treatment-experienced:* a validare l'opzione terapeutica long-acting con Cabotegravir e Rilpivirina come strategia di mantenimento furono i significativi trials *ATLAS* ed *ATLAS-2M (Antiretroviral Therapy as Long Acting Suppressione-2 Months)*, studi di fase III e IIIb rispettivamente, randomizzati e multicentrici, con oltre 1600 pazienti studiati in totale tra i due studi. Lo studio *ATLAS* ha coinvolto circa 600 partecipanti, randomizzati in due gruppi: un gruppo di controllo che assumeva una triplice terapia con 2 NRTIs ed un terzo farmaco (PIs o NNRTI o INSTIs), ed un gruppo di studio che passava ad una terapia orale con CAB+RPV per un mese per poi passare a terapia intramuscolo con CAB+RPV ogni 4 settimane (Q4W). Alla 52esima settimana anche il gruppo di controllo passava alla terapia orale con CAB+RPV per poi passare alla terapia iniettabile.

Lo studio *ATLAS-2M* si preponeva di valutare la sicurezza della somministrazione di CAB+RPV intramuscolo ogni 8 settimane (Q8W) rispetto alla posologia Q4W. I due gruppi in questo studio prevedevano un braccio di controllo con pazienti in triplice terapia standard of care, ed un gruppo che assumeva terapia long-acting Q4W dal precedente studio *ATLAS*. I pazienti di entrambi i bracci venivano poi randomizzati per ricevere CAB LA+RPV LA Q4W oppure Q8W.

I risultati degli studi sono ottimi: in particolare lo studio *ATLAS* raggiunse i criteri di non inferiorità in termini di controllo virologico ed effetti avversi a 96 settimane, e lo studio *ATLAS-2M*, ancora in corso, ha già dimostrato gli stessi risultati a 48 settimane.

*in pazienti naïve:* il primo importante studio a riguardo è stato il key trial *FLAIR*, randomizzato, multicentrico e comprendente 631 pazienti, che ha confrontato la terapia intramuscolo CAB LA+ RPV LA con la triplice terapia DTG/3TC/ABC. I pazienti in studio, *naïve to treatment*, hanno assunto DTG/3TC/ABC per via orale per 20 settimane, per poi esser randomizzati in due gruppi, il gruppo di studio in cui si è passati alla terapia long-acting, ed il gruppo di controllo in cui si è continuata la triplice terapia orale di induzione. I risultati a 48 settimane sono risultati ottimi in termini di controllo virologico ed effetti avversi. Un sotto-studio del trial *FLAIR* ha anche valutato, in 121 pazienti, la possibilità di non effettuare la fase di induzione orale di 20 settimane con triplice terapia, ed i risultati sono stati brillanti.

Anche lo studio *LATTE-2* è molto importante, in quanto ha valutato il profilo di sicurezza in termini di controllo virologico ed effetti avversi della terapia long-acting Q8W nei pazienti

*naïve*. Dopo 20 settimane di induzione orale con una triplice terapia contenente Cabotegravir, circa 300 pazienti sono stati randomizzati in tre bracci di studio, rispettivamente con la triplice terapia di induzione, terapia long-acting Q4W e terapia long-acting Q8W. I risultati dimostrano ottimo controllo virologico e ottima tollerabilità rispetto al controllo a 96 settimane (48).

## 8. Monoterapie

Tra le altre strategie di semplificazione vanno citati i tentativi di proporre una monoterapia come strategia di mantenimento.

I key trials a riguardo sono il *MONCAY* trials (MONotherapy of tiviCAY, 2015-2018) ed il *PIVOT* study (Protease Inhibitor monotherapy Versus Ongoing Triple-therapy 2008-2013).

Il *MONCAY* trials ha rivelato un significativo aumento di fallimenti virologici e di insorgenza di resistenze nei confronti di INSTIs rispetto al gruppo di controllo (triplice terapia DTG-based), una sostanziale incapacità di ridurre il reservoir virale (con più alti livelli di HIV-DNA rispetto al controllo) ed una maggior attivazione T e B cellulare rispetto al controllo, con anche peggior controllo delle coinfezioni con EBV (64).

Il *PIVOT* trial si è invece rivelato di notevole importanza, in quanto ha utilizzato come strategia di mantenimento, in monoterapia, vari inibitori di proteasi, in combinazione con un enhancer farmacologico, partendo dal presupposto che si tratti di farmaci con alta barriera genetica alle resistenze e che siano farmaci molto sicuri ed efficaci. L'obiettivo primario era valutare la sicurezza della monoterapia in termini di comparsa di nuove resistenze a farmaci definite *intermediate or high level*. Lo studio ha evidenziato a 3 ed a 5 anni un tasso molto alto (circa il 30%) di fallimento virologico, ma nel design dello studio era previsto che questi pazienti venissero prontamente trattati con cART (terapia di combinazione): il presupposto è che lievi viremie in pazienti altresì soppressi non costituiscono un pericolo dal punto di vista dell'insorgenza di mutazioni, dal punto di vista della progressione dell'infezione e nemmeno dal punto di vista della trasmissione del virus ad altri soggetti. Si è notato che circa un 70% dei pazienti rimanevano soppressi in monoterapia al termine dello studio, e che il maggior tasso di fallimenti si aveva entro il primo anno. Si è potuto anche affermare che nonostante l'alto numero di fallimenti non c'è stato un significativo aumento del rischio di insorgenza di mutazioni, dimostrando quindi l'endpoint primario. Si è raggiunta anche la non inferiorità in quanto ad effetti avversi, anche dal punto di vista neuropsichiatrico vista la criticità dei PIs in termini di penetrazione nel SNC che risulta sub-ottimale rispetto alle terapie di combinazione. In conclusione questo studio ha rivelato una nuova possibilità terapeutica da tenere in considerazione in certi sottogruppi di pazienti particolari, come pazienti con virus multi-resistenti, pazienti con patologie renali ed altre patologie per cui una monoterapia simile

potrebbe esser preferibile ed infine una soluzione valida anche riguardo all'aspetto costo-beneficio (65).

### 9. Single-Tablet-Regimen (STR)

La necessità di semplificare il regime terapeutico ha portato nel 2006 (2008 in Italia) all'introduzione della prima coformulazione a singola pillola, Atripla (EFV/FTC/TDF). Da allora nuove combinazioni sono progressivamente state immesse in commercio.

La tendenza è quella di preferire i regimi STR in prima linea e ciò si riflette nella maggior prescrizione di tali formulazioni rispetto ad altre, con valori fino al 50% sul totale (33).

Di seguito la lista dei farmaci STR disponibili.

Nome commerciale	Principi attivi
Atripla	(EFV/FTC/TDF)
Biktarvy	(BIC/FTC/TAF)
Complera	(FTC/RPV/TDF)
Delstrigo	(DOR/3TC/TDF)
Dovato	(DTG/3TC)
Genvoya	(EVG/c/FTC/TAF)
Juluca	(DTG/RPV)
Odefsey	(FTC/RPV/TAF)
Stribild	(EVG/c/FTC/TDF)
Symtuza	(DRV/c/FTC/TAF)
Triumeq	(ABC/DTG/3TC)

*Figura 11: diversi STR disponibili*

### 10. Altre opzioni terapeutiche, sguardo al futuro

Si descrivono in breve nuove opzioni terapeutiche che potrebbero avere notevole impatto nella cura dell'infezione da HIV in futuro.

1) Per quanto riguarda la possibilità di impianto di device sottocutanei si segnala lo studio *NCT03272347* (66), studio in cui si è confrontato l'utilizzo di Islatravir (ISL), un nuovo NRTTI, unitamente alla Doravirina (un NNRTI) e Lamivudina (ISL/DOR/3TC) con una triplice terapia comprendente Doravirina (DOR/3TC/TDF). La combinazione terapeutica studiata, somministrata per via orale a tre dosaggi terapeutici differenti, ha dimostrato ottima soppressione virologica e migliore profilo di sicurezza rispetto al controllo in termini di effetti avversi a 96 settimane a tutti i dosaggi.

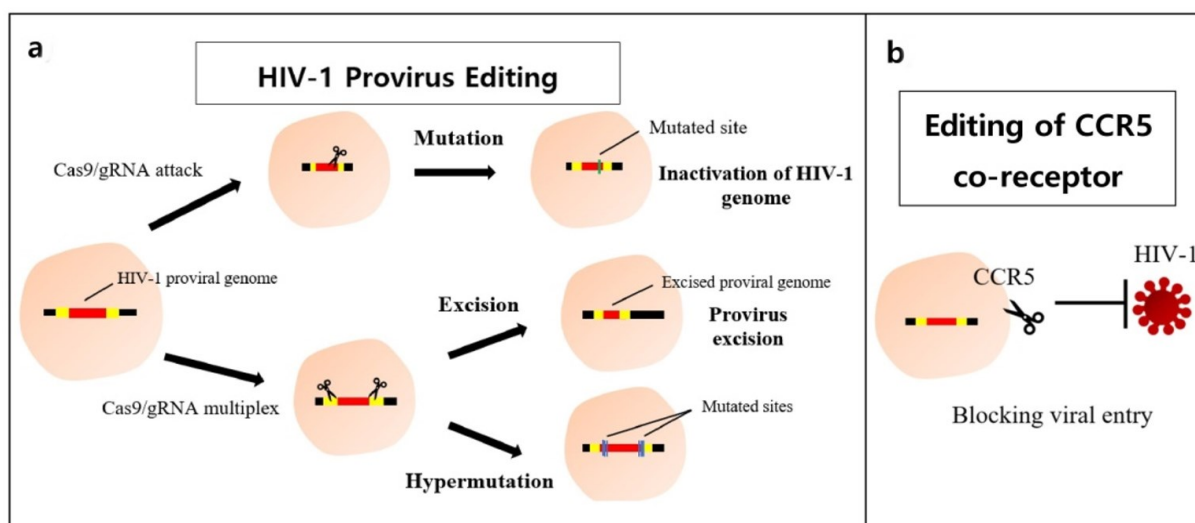
2) Sunleca (Lenacapavir): da poco approvato dalla FDA (dicembre 2022) questo nuovo farmaco bersaglia il capsido virale interferendo con vari step del ciclo replicativo virale. Il trial a supporto di questa nuova opzione è lo studio *CAPELLA*, studio di fase 2/3 in cui vi sono poche decine di partecipanti con ceppi multi-resistenti (con una media di 8-9 fallimenti terapeutici ciascuno). La via di somministrazione è sottocutanea ogni 6 mesi, e sta per ora dimostrando migliori risultati in termini di controllo virologico ed effetti avversi rispetto al placebo (67).

3) Vaccini: la terapia cART è in grado di indurre soppressione virologica ma non di eradicare l'HIV, è in grado di aumentare il livello delle cellule CD4+ ma è dimostrato che non riesca a

ristabilire la completa funzionalità del sistema immunitario, con modifiche epigenetiche sostanziali a carico delle cellule CD8<sup>+</sup> verso un pattern di *exhaustion program* (68): una sospensione di questo trattamento può rapidamente indurre ad un aumento della viremia. Esistono dei soggetti, definiti *elite controllers*, in grado di presentare soppressione virologica di lunga durata, fino ad oltre vent'anni, e ottimi valori linfocitari: da ciò si deduce che sia possibile per il sistema immunitario controllare l'infezione attraverso le cellule dell'immunità acquisita, ed un notevole impegno nel campo dell'immunologia è stato dispiegato per comprenderne i meccanismi e sviluppare attraverso queste conoscenze delle strategie terapeutiche. È noto che, più tempo passa dall'infezione iniziale alla terapia HAART, più aumenta il reservoir virale, reservoir che si compone di quasispecie virali con mutazioni antigeniche già in grado di eludere il sistema immunitario: questo reservoir virale è dunque estremamente difficile da eradicare. I vaccini terapeutici si pongono dunque come strategia per potenziare o stimolare il sistema immunitario al fine di migliorare la soppressione virologica ed eradicare il reservoir virale. Varie strategie terapeutiche sono state percorse quali ad esempio la somministrazione di envelopes virali, subunità virali, quali la rpg160 ricombinante, l'utilizzo di vettori virali differenti come adenovirus, VSV, canary pox virus o il complesso utilizzo di cellule dendritiche esposte ad antigeni in vitro e reinoculate per stimolare una migliore e più vasta presentazione antigenica alle cellule T.

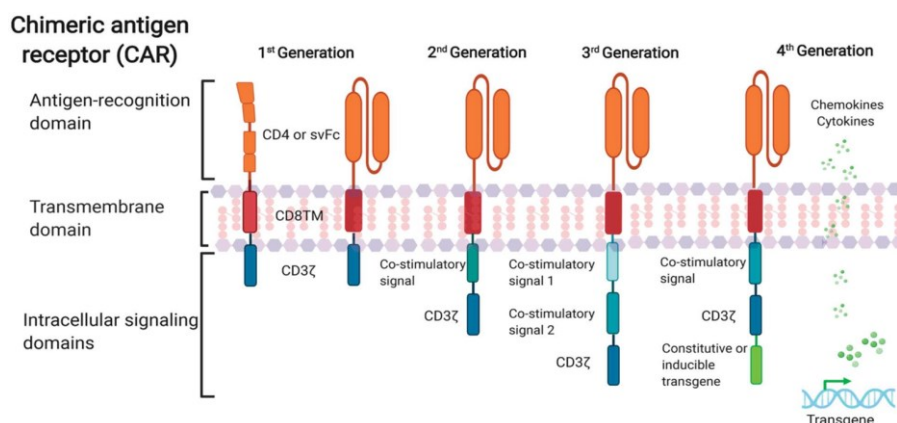
Nonostante vari vaccini siano risultati in grado di migliorare la risposta autologa HIV-specifica delle cellule T, non è stata riscontrata una correlazione clinica con una miglior soppressione virologica come non è stato possibile ridurre in questo modo il reservoir virale (69).

4) Gene editing: tra le promettenti strategie per l'eradicazione dell'infezione che potrebbero vedere in futuro un notevole sviluppo si segnala l'editing genetico con tecnologia CRISPR/Cas9. Studi già effettuati su modelli animali, utilizzando diversi approcci di terapia genica, hanno dato risultati significativi in termini di controllo virologico a lungo termine, ma la strada che porterà l'applicazione di questa tecnica nell'uomo è ancora lunga ed incerta. Nella tabella di seguito (70) sono illustrati i principali meccanismi utilizzati nell'animale per combattere l'infezione da HIV. Le problematiche da affrontare prima di applicare questa tecnologia nell'uomo riguardano la riduzione dell'attività *off-target*, la piena comprensione dei meccanismi virali di *escape* dal genome editing che si è talvolta riscontrato in vari studi, una miglior conoscenza in termini di identificazione e caratterizzazione delle cellule che compongono il reservoir virale per esser certi di debellarlo completamente ed infine lo sviluppo di *delivery system* della terapia genetica efficaci ed affidabili.



**Figura 12:** diversi meccanismi di editing genetico possibili contro l'infezione da HIV

5) CAR-T. Le cellule T con *Chimeric Antigen Receptors* rappresentano un importante campo di studio nel trattamento dell'infezione da HIV. Il razionale è la capacità di una forte risposta immunitaria di controllare l'infezione in assenza di cART, condizione che si riscontra in una minima percentuale di pazienti denominati *elite controllers*. Prelevando linfociti T ed ingegnerizzandoli, espandendoli e reinoculandoli nel paziente potrebbe essere possibile ottenere una risposta immunitaria significativa, duratura e diffusa in tutti i siti anatomici necessari. Nel tempo quattro diverse generazioni di CAR-T cells, di cui la tabella seguente (71), sono state messe a punto, ma fino ad ora non sono stati ottenuti i risultati sperati. Si è visto ad esempio che con la somministrazione di CAR-T di prima generazione, nonostante non si siano ottenuti risultati significativi in termine di controllo virologico, non si è osservata tossicità e la permanenza nell'organismo delle cellule ingegnerizzate è risultata di oltre 10 anni (72). Le CAR-T cells di quarta generazione, o TRUCKs (T cells Redirected for Universal Cytokine-mediated Killings), contengono ad esempio un dominio intracellulare legato ad i recettori di membrana capace di indurre la produzione di numerose citochine, potenziandone notevolmente



**Figura 13:** illustrazione dei recettori di membrana delle varie generazioni di CAR-T cells

l'attività di killing cellulare. Le CAR-T di terza e di quarta generazione sono state sviluppate con elevata funzione effettrice, elevata capacità di sopravvivenza e proliferazione ed incrementata capacità di *killing* nei confronti dei citotipi bersaglio (ad esempio nel campo tumorale). Un'altra importante caratteristica delle CAR-T cells è la loro capacità di agire in maniera MHC indipendente, risultando così ancora meno vulnerabili ai sistemi di escape virale basato sulla down-regolazione di MHC-I nelle cellule infette. In questi studi si è molto considerato l'utilizzo dell'approccio "*Kick and Kill*", ovvero l'utilizzo di LRAs (*Latency Reversing Agents*) per indurre la riattivazione e l'uscita del virus dalla latenza per favorire l'individuazione di tali cellule infette dal sistema immunitario. Le questioni ancora aperte in tale campo riguardano l'entità della riattivazione nell'utilizzo di tali agenti, la capacità di azione delle CAR-T unite ai LRAs in maniera uniforme nei vari reservoir e siti anatomici privilegiati ed infine la necessità di somministrazioni ripetute di diversi cicli di CAR-T + LRAs.

## **SCOPO DELLO STUDIO**

Nella cronicità dell'infezione da HIV, in cui la terapia antiretrovirale viene assunta dai pazienti a vita, numerosi studi hanno cercato regimi alternativi, semplificati, con il presupposto di garantire efficacia e sicurezza ed al contempo ridurre gli effetti avversi legati ai farmaci, ridurre le interazioni farmacologiche, ricercare dei regimi che impattino di meno sulle comorbidità dei pazienti e preservare maggiori opzioni terapeutiche utilizzando meno farmaci.

La semplificazione a due farmaci è risultata sicura ed efficace da studi in letteratura in termini di controllo virologico ed immunologico ma vari studi evidenziano come alcuni problemi rimangano da indagare ulteriormente, come descritto nel capitolo relativo alle criticità dei regimi 2DR di questa tesi, e suggeriscono l'utilizzo prudente di queste combinazioni farmacologiche. Lo scopo del presente studio è quello di verificare le evidenze scientifiche, in termini di efficacia, relative all'utilizzo di regimi di duplice terapia in ambienti di *real-world italiano* in quanto le caratteristiche dei pazienti riscontrate in contesti ambulatoriali risultano meno omogenea rispetto a quelle presentate dai vari trial clinici, italiani e non, a supporto delle varie combinazioni terapeutiche semplificate.

Inoltre anche i tempi di follow-up ambulatoriali risultano discostarsi da quelli presentati nei vari studi scientifici, in quanto i pazienti possono non presentarsi alle visite di controllo, i medici possono per motivi organizzativi aver bisogno di posticiparne o anticiparne le rivalutazioni, i pazienti possono essere presi in carico da medici differenti e talvolta il clinico può essere indotto a dubitare dell'effettiva compliance del paziente senza però poter avere la possibilità di richiedere dei TDM (monitoraggio terapeutico del principio attivo) per verificare tale sospetto. A volte negli ambienti ambulatoriali si possono anche includere dei pazienti utilizzando dei criteri di inclusioni leggermente più ampi rispetto a quelli di alcuni trials a supporto dei regimi raccomandati: nello analisi retrospettiva che qui proponiamo infatti sono stati inclusi anche alcuni soggetti che non disponevano di test di resistenze farmacologiche e soprattutto diversi pazienti che avevano sperimentato fallimenti terapeutici pregressi (condizione spesso ritenuta di esclusione secondo vari trials a supporto delle diverse combinazioni terapeutiche).

Con questo studio si sono dunque confrontati i risultati di molti lavori scientifici a supporto degli attuali regimi di duplice terapia, in pazienti treatment-experienced, in contesti di sanità territoriale, nello specifico in quello degli ambulatori della U.O.C. di Malattie Infettive di Vicenza.

Infine uno scopo secondario è rappresentato dalla valutazione dell'influenza dell'HIV-DNA provirale sull'efficacia virologica pre e post semplificazione, sub-analisi condotta su un sottogruppo di 43 pazienti di cui si disponeva dei valori del DNA provirale su cellule mononucleate periferiche.

## **MATERIALI E METODI**

Il presente studio è stato effettuato attraverso l'analisi delle cartelle cliniche presenti negli ambulatori della U.O.C. di Malattie Infettive di Vicenza di pazienti in semplificazione ad un regime a due farmaci dal 1° gennaio 2016 al 31 gennaio 2023, con l'ultima semplificazione eseguita in data 25/02/2022. Attraverso l'analisi di tali dati raccolti è stato possibile studiare la situazione viro-immunologica dei soggetti in studio sia precedente alla semplificazione sia nei vari tempi di follow-up successivi ad essa. I pazienti studiati sono risultati essere 134, ovvero quei soggetti di cui si disponeva dei dati viro-immunologici al momento della semplificazione e che incontravano i criteri di inclusione previsti. Sono stati inclusi i pazienti con le seguenti caratteristiche: HBsAg negativo alla semplificazione o in rilevazioni precedenti, in soppressione virologica da almeno 6 mesi prima della semplificazione (ad eccezione di due pazienti) e con test di resistenze farmacologiche (disponibili per la maggior parte dei pazienti).

Sono stati raccolti i seguenti dati anagrafici come l'età alla diagnosi ed alla semplificazione del regime terapeutico, la sierologia per HBV ed HCV, i valori riscontrati al controllo virologico a 12 ed a 24 mesi, la storia di fallimenti terapeutici, i test di resistenza farmacologica, le varie terapie HAART assunte precedentemente alla semplificazione, il nadir delle cellule CD4+ raggiunto dai pazienti, ed i parametri viro-immunologici (HIV-RNA, numero assoluto e percentuale delle cellule CD4+ ed il rapporto tra le cellule CD4+/CD8+) al momento della semplificazione.

Dopo la semplificazione si è eseguito un controllo ravvicinato ed in seguito si sono eseguiti i controlli a 12 ed a 24 mesi: in tali occasioni i valori di viremia, i valori assoluti e percentuali sono stati rilevati.

Si sono analizzati i valori viro-immunologici in diversi gruppi e sottogruppi di pazienti, ottenuti in base al regime terapeutico assunto ed in base alla carica virale al momento della semplificazione ed al momento dei vari follow-up (non rilevabile, inferiore alle 40 copie/mL o superiore alle 40 copie/mL). Opportune analisi statistiche sono state effettuate per orientare circa la solidità di tali risultati.

Le variabili continue sono state descritte come mediana e interquartile range e la loro analisi comparativa è stata eseguita con il test di Mann-Whitney per dati indipendenti e con il test di Wilcoxon per dati appaiati.

Le variabili categoriche sono state espresse come numero assoluto e percentuale e le differenze sono state studiate applicando il Chi squared test e il Fisher's exact test.

Programma utilizzato: MedCalc® Statistical Software version 20.218 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium; <https://www.medcalc.org>; 2023).

## **RISULTATI:**

### **Valutazione della risposta immuno-virologica a 12 mesi.**

Lo studio della risposta virologica è stato eseguito sul gruppo di pazienti che avevano HIV RNA plasmatico < 40 copie/ml nel controllo pre-semplificazione: 127/134. Un paziente, sui 135 in studio, non si è presentato per eseguire la rivalutazione laboratoristica. Le caratteristiche dei 7 pazienti non inclusi sono rappresentate nella tabella seguente: 6 di questi pazienti sono stati semplificati con 3TC+DTG, 1 pazienti invece in duplice terapia con un PIs. Lo stato immuno-virologico al 12 mese è risultato disponibile per 6 pazienti (uno non si è presentato alla visita): 2 pazienti presentavano HIV-RNA non rilevabile, 1 paziente presentava HIV RNA < 40 copie/ml, 3 pazienti presentavano HIV RNA > 40 copie/ml.

**Tabella 1:** Caratteristiche dei 7 pazienti esclusi per rilevazione di viremia superiore alle 40 copie/mL alla semplificazione

	Mediana	IQR
Età alla diagnosi	30	26.5-41
Età alla semplificazione	48	39-58
Nadir CD4+ (cellule/ $\mu$ L)	311	121-381
CD4+ assoluti al t0 (cellule/ $\mu$ L)	691	557-820
CD4+ % al t0 (cellule/ $\mu$ L)	26.7	23.3-30.9
CD4+/CD8+ Ratio	0.55	0.43- 0.71
HIV1-RNA al t0 (copie/mL)	86	56-111

### **Valutazione della risposta immuno-virologica a 12 mesi nei pazienti in terapia con 3TC+DTG.**

Il regime di duplice terapia 3TC+DTG è stato il più prescritto tra i possibili regimi raccomandati, con la somministrazione a 105 pazienti sui 135 pazienti totali.

I pazienti con HIV-RNA non rilevabile o inferiore alle 40 copie/mL al momento della semplificazione erano 99/105, ed i dati immuno-virologici relativi ai 12 mesi successivi sono risultati disponibili per 93/99 pazienti. I motivi per cui i dati di 6 pazienti non sono risultati disponibili sono i seguenti: per 2 pazienti la data di follow-up risultava successiva alla chiusura del database, 2 pazienti si sono trasferiti ad un altro centro, 1 paziente è deceduto ed 1 paziente ha sperimentato un fallimento terapeutico.

La tabella sottostante compara lo stato virologico a t0 ed a t12 dei sottogruppi di pazienti divisi in base alla rilevabilità della viremia in tali intervalli temporali.

In questa sub-analisi, si sono individuati due sottogruppi in base al risultato della rilevazione viremica (HIV-RNA Non Rilevabile, NR, oppure inferiore alle 40 copie/mL) al momento della semplificazione e sono stati confrontati i risultati virologici a 12 mesi dopo la semplificazione all'interno di questi due gruppi. Nello specifico al 12° mese, 40 pazienti su 63 che risultavano con HIV-RNA NR (63.5%) presentavano viremia non rilevabile al momento della semplificazione e 23 pazienti su 63 (36.5%) presentavano viremia inferiore alle 40 copie/mL al momento della semplificazione.

La percentuale più alta di viremia rilevabile con il metodo utilizzato è stata riscontrata nel gruppo con viremia inferiore alle 40 copie/mL al baseline, con il 35.9% di pazienti che hanno presentato viremia <40 copie/mL a 12 mesi, rispetto al 25.9% di pazienti che partivano da una

viremia non rilevabile al baseline (dato non statisticamente significativo, con p value = 0.3036). Solo in questo gruppo, con viremia inferiore alle 40 copie/mL al baseline, si sono verificate viremie a 12 mesi superiori alle 40 copie/mL, nel 5.1% dei pazienti (2 pazienti su 39).

La percentuale di pazienti risultati con viremia non rilevabile al 12° mese post-semplificazione è risultata essere sovrapponibile (rispettivamente 74.1% e 59%, con p value=0.1263) tra il gruppo dei pazienti con viremia NR al momento della semplificazione ed il gruppo dei pazienti con viremia < 40 copie/mL al momento della semplificazione.

Nel complesso il 97.8% dei pazienti in terapia con 3TC+DTG (91 pazienti su 93) è risultato dimostrare un buon controllo virologico a 12 mesi di follow-up.

**Tabella 2:** Descrizione dei valori di viremia plasmatica dopo 12 mesi di terapia 2DR con 3TC+DTG

	Pz con HIV RNA NR a t12 n=63	Pz con HIV RNA < 40 copie/ml a t12 n= 28	Pz con HIV RNA > 40 copie/ml a t12 n=2
Pz con HIV RNA NR a t0 n= 54	40 (74.1)	14 (25.9)	0
Pz con HIV RNA < 40 copie/ml a t0 n= 39	23 (59)	14 (35.9)	2 (5.1)

Si sono confrontati, nei quattro gruppi individuati dalla tabella soprastante, i valori dei linfociti CD4+ in termini di numero assoluto e valore percentuale.

Tali valori si sono confrontati nei 40 pazienti con viremia non rilevabile sia al momento della semplificazione che dopo 12 mesi dalla semplificazione (*Gruppo NR-NR*), nei 14 pazienti con viremia non rilevabile al momento della semplificazione ma con valori inferiori alle 40 copie/mL dopo 12 mesi dalla semplificazione (*Gruppo NR-<40copie/mL*), nei 23 pazienti con viremia inferiore alle 40 copie/mL alla semplificazione con viremia non rilevabile ai 12 mesi successivi (*Gruppo <40copie/mL-NR*) ed infine nei 14 pazienti con viremia inferiore alle 40 copie/mL sia alla semplificazione che ai 12 mesi successivi (*Gruppo <40copie/mL-<40copie/mL*). Nessuna differenza statisticamente significativa è stata osservata nei diversi gruppi ed un buon controllo immunologico è stato raggiunto dopo 12 mesi di follow-up nei pazienti in terapia con 3TC/DTG.

**Tabella 3:** Descrizione dell'evoluzione dei numeri assoluti e percentuali delle cellule CD4+ nei 4 gruppi relativi alla Tabella 2

	Cellule CD4+ alla semplificazione (cellule/mm <sup>3</sup> )	Cellule CD4+ a 12 mesi di follow-up (cellule/mm <sup>3</sup> )	<i>p</i>	Cellule CD4+ % alla semplificazione	Cellule CD4+ % a 12 mesi di follow-up	<i>p</i>
Gruppo NR-NR, n=40	582 (451-713)	613 (427-729)	0.3072	34.3 (25.7-39.6)	34.4 (25.3-40.1)	0.9812
Gruppo NR - <40 copie/ml n=14	835 (602-1129)	742 (648-1133)	0.7354	34.8 (33.5-43.02)	34.7 (29.4-37.6)	0.1241
Gruppo <40 copie/ml - NR, n=23	706 (515-938)	694 (547-946)	0.2958	33 (23.8-36.8)	31.4 (25.9-37.8)	0.1841
Gruppo <40 copie/ml - <40 copie/ml n=14	646 (435-836)	656 (476-987)	0.3013	32.7 (24.1-39.4)	34.7 (23.2-38.5)	0.5828

**Valutazione della risposta virologica a 12 mesi nei pazienti in duplice terapia comprendente Inibitori di Proteasi.**

Dei 20 pazienti che hanno ricevuto indicazione al trattamento con inibitori di Proteasi il dato viro-immunologico al momento della semplificazione è risultato disponibile per 18 pazienti di cui 11 pazienti hanno presentato viremia non rilevabile al t0 e 7 pazienti invece viremia inferiore alle 40 copie/mL. Per quanto riguarda i 2 pazienti di cui non si dispongono dati, un paziente non si è presentato alla valutazione viro-immunologica mentre un altro presentava una viremia superiore alle 40 copie/mL al momento della semplificazione. Di questi 18 pazienti disponiamo dei valori a 12 mesi per **16** pazienti, perché due pazienti hanno eseguito i prelievi di

monitoraggio ad intervalli non corrispondenti a quelli dello studio. Il 60% (6 pazienti) dei pazienti risultati con viremia non rilevabile al tempo di follow-up t12 presentavano viremia non rilevabile anche al momento della semplificazione, mentre il restante 40% (4 pazienti) di pazienti risultati con viremia non rilevabile al t12 presentavano una viremia inferiore alle 40 copie/mL al baseline. Nella tabella sottostante si sono confrontati i valori virologici nei due gruppi di pazienti con viremia non rilevabile e viremia inferiore alle 40 copie/mL al momento della semplificazione. La percentuale di pazienti con viremia non rilevabile dopo 12 mesi dalla semplificazione è risultata essere sovrapponibile (rispettivamente 66.7% e 57.1%, con *p value* =1) nei gruppi di pazienti con viremia non rilevabile e viremia inferiore alle 40 copie/mL al momento della semplificazione. Nel complesso il 93.7% dei pazienti ha mantenuto un buon controllo virologico con un regime di duplice terapia contenente Inibitori di Proteasi, ma è necessario far presente che la scarsa numerosità statistica può non conferire gran solidità a tale riscontro.

Anche in questo caso riscontriamo che i soggetti con viremia inferiore alle 40 copie/mL al baseline sono quelli che più frequentemente presentano viremia residua rilevabile al follow-up rispetto ai pazienti con viremia non rilevabile al baseline (42.9% dei pazienti vs 22.2%).

**Tabella 4:** Descrizione dei valori di viremia plasmatica dopo 12 mesi di terapia 2DR comprendente Inibitori di Proteasi

	Pz con HIV RNA NR a t12 n=10	Pz con HIV RNA < 40 copie/ml a t12 n= 5	Pz con HIV RNA > 40 copie/ml a t12 n=1
Pz con HIV RNA NR a t0 n= 9	6 (66.7)	2 (22.2)	1 (11.1)
Pz con HIV RNA < 40 copie/ml a t0 n= 7	4 (57.1)	3 (42.9)	0

Vista la scarsa numerosità di tali sottogruppi, il confronto dei valori assoluti e percentuali dei linfociti CD4+ è stato eseguito solamente nei due sottogruppi che presentavano viremia non rilevabile 12 mesi dopo la semplificazione (rispettivamente il gruppo con viremia non rilevabile sia al momento della semplificazione che 12 mesi dopo, comprendente 6 pazienti, ed il gruppo

con viremia inferiore alle 40 copie/mL al momento della semplificazione ma con viremia non rilevabile 12 mesi dopo, comprendente 4 pazienti). Nessuna differenza statisticamente significativa è emersa, ed entrambi i gruppi hanno mantenuto un controllo immunologico soddisfacente a 12 mesi anche con questo regime terapeutico.

**Tabella 5:** Descrizione dell'evoluzione dei numeri assoluti e percentuali delle cellule CD4+ nei 4 gruppi relativi alla Tabella 4

	Cellule CD4+ alla semplificazione (cellule/mm <sup>3</sup> )	Cellule CD4+ a 12 mesi di follow-up (cellule/mm <sup>3</sup> )	<i>p</i>	Cellule CD4+ % alla semplificazione	Cellule CD4+ % a 12 mesi di follow-up	<i>p</i>
Gruppo NR-NR, n=6	513 (339-647)	491 (333-723)	1	32.6 (23.6-40.2)	35.9 (24.7-40.1)	0.125
Gruppo < 40 copie/ml/NR, n=4	620 (511-751)	618 (552-1110)	0.625	33.6 (26.6-39.4)	37.7 (29.4-40.4)	0.3750

**Valutazione della risposta virologica a 12 mesi nei pazienti che hanno assunto un regime di duplice terapia differente dai primi due descritti.**

10 pazienti sono stati seguiti a 12 mesi con dati viro-immunologici disponibili per tutti i soggetti. Al momento della semplificazione 4 di loro risultavano presentare una viremia non rilevabile (40%), mentre 6 (60%) presentavano una viremia inferiore alle 40 copie/mL. Il 57.1% (4 pazienti) dei soggetti risultati con viremia non rilevabile a 12 mesi presentavano viremia non rilevabile anche al momento della semplificazione, mentre il 42.9% (3 pazienti) con viremia NR a 12 mesi partiva da una viremia inferiore alle 40

RAL+DOR
DRV/c+DTG
LPV/r+RAL
DRV/c+DTG
DTG+RPV
3TC+RAL
3TC+RAL
DRV/r+RAL
NVP+RAL
DRV/c+DTG

copie/mL al momento della semplificazione. Le seguenti tabelle descrivono rispettivamente i regimi terapeutici assegnati e la risposta virologica nei due gruppi con viremia rispettivamente non rilevabile ed inferiore alle 40 copie/mL al momento della semplificazione. Di questi, 7 pazienti hanno assunto una duplice terapia con un INSTIs + un PIs, 1 paziente ha assunto un INSTIs + un NNRTIs (RAL + NVP) e 2 pazienti hanno assunto un INSTIs + un NRTIs (RAL

+ 3TC). Nel complesso il 90% dei pazienti che assumevano tali regimi terapeutici ha mantenuto un soddisfacente controllo virologico a 12 mesi.

**Tabella 6:** Descrizione dei valori di viremia plasmatica dopo 12 mesi di terapia 2DR alternativa alle precedenti

	Pz con HIV RNA NR a t12 n=7	Pz con HIV RNA < 40 copie/ml a t12 n=2	Pz con HIV RNA > 40 copie/ml a t12 n=1
Pz con HIV RNA NR a t0 n= 4	4 (100)	0	0
Pz con HIV RNA < 40 copie/ml a t0 n= 6	3 (50)	2 (33.3)	1 (16.7)

Considerata la bassa numerosità è difficile trarre conclusioni significative da tali risultati, ma è possibile affermare che i risultati osservati sono in linea con quanto atteso.

Per quanto riguarda la valutazione dei valori dei linfociti CD4+ nei 4 pazienti con HIV RNA non rilevabile sia alla semplificazione che 12 mesi dopo, il numero assoluto delle cellule CD4+ espresso come mediana e range interquartile (rispettivamente 527, IQR 500-598 e 658, IQR 473-825, con *p value* = 0.6250) ed il valore percentuale di tali cellule (rispettivamente 25.6, IQR 22.8-26.1 e 23.8, IQR 19.3-27.7, con *p value*= 0.8750) sono risultati essere sovrapponibili.

#### **Valutazione complessiva della risposta immuno-virologica a 24 mesi:**

Sono stati inclusi in questa analisi tutti i pazienti per i quali la risposta immuno-virologica risultava disponibile a 24 mesi, ovvero **94** pazienti in totale. Di questi pazienti, 72 assumevano il regime terapeutico 3TC+DTG, 14 assumevano una duplice terapia comprendente PIs e i rimanenti 8 assumevano alti regimi terapeutici.

#### **Valutazione della risposta immuno-virologica a 24 mesi nei pazienti in terapia con 3TC+DTG:**

Dei **72** pazienti in terapia con 3TC+DTG di cui disponiamo dei dati immuno-virologici a 24 mesi, 53 (il 73.6%) sono risultati presentare viremia non rilevabile al follow-up mentre solo 4 (5.6%) hanno presentato viremia superiore alle 40 copie/mL. Nel complesso il 93.1% (67 pazienti su 72) dei pazienti in 3TC+DTG hanno dimostrato un soddisfacente controllo virologico a 24 mesi.

Nella tabella sottostante si confronta la viremia dei pazienti al baseline ed al tempo di follow-up di 24 mesi, con suddivisione in sottogruppi sulla base della rilevabilità viremica.

Più nello specifico notiamo che il 77.5% dei pazienti che presentavano viremia non rilevabile al baseline hanno presentato viremia non rilevabile anche dopo 24 mesi, lo stesso vale per i pazienti con viremia inferiore alle 40 copie/mL con il 71.4% di loro che sono risultati avere viremia non rilevabile a 24 mesi. Percentuali sovrapponibili sono ottenute in tutti e tre gruppi di pazienti (Gruppo NR al t0, Gruppo <40copie/mL al t0 e Gruppo >40 copie/mL al t0) al baseline rispetto alla viremia al 24° mese, rispettivamente con le seguenti percentuali: 77.5% nel primo gruppo (40 pazienti), 71.4% nel secondo gruppo (28 pazienti) e 50% nel terzo gruppo che presenta però una scarsa numerosità di appena 4 pazienti (p value=0.5722 per 77.5% vs 71.4%, p value=0.2564 per 77.5% vs 50%, p value=0.571 per 71.4% vs 50%, p value=0.21 per 12.5% vs 25%, p value=0.112 per 12.5% vs 50% ed infine p value=0.556 per 25% vs 50%).

Il 58.5% dei pazienti (31 su 53) risultati con viremia non rilevabile dopo 24 mesi di follow-up dimostravano non rilevabilità viremica anche al momento della semplificazione, mentre il 37.7% dei soggetti (20 su 53) con viremia NR al 24° mese presentavano una viremia baseline inferiore alle 40 copie/mL. 2 pazienti su 53 infine (3.8%) sono risultati avere una viremia non rilevabile al 24° mese di follow-up nonostante partissero da valori viremici baseline superiori alle 40 copie/mL.

Inaspettatamente l'80% dei pazienti (4 soggetti su 5) con viremia >40 copie/mL al 24° mese risultava avere viremia non rilevabile al momento della semplificazione, mentre 1 paziente (20%) risultava presentare una viremia inferiore alle 40 copie/mL alla semplificazione, ma la numerosità potrebbe essere troppo scarsa per conferire significatività a questo riscontro. Tra i pazienti con viremia inferiore alle 40 copie/mL al follow-up t24, la maggior parte, il 50% (7 pazienti su 14), risultava presentare una viremia inferiore alle 40 copie/mL alla semplificazione. Le percentuali più alte di viremia rilevabile si sono ottenute nel gruppo che presentava viremia superiore alle 40 copie/mL alla semplificazione e nel gruppo che ne presentava meno di 40, con rispettivamente il 50% (2 pazienti su 4) ed il 25% (7 pazienti su 28) ad aver presentato viremia inferiore alle 40 copie/mL dopo 24 mesi.

**Tabella 7:** Descrizione dei valori di viremia plasmatica dopo 24 mesi di terapia 2DR con 3TC+DTG

	Pz con HIV RNA NR a t24 n=53	Pz con HIV RNA < 40 copie/ml a t24 n= 14	Pz con HIV RNA > 40 copie/ml a t24 n=5
Pz con HIV RNA NR a t0 n= 40	31 (77.5)	5 (12.5)	4 (10)
Pz con HIV RNA < 40 copie/ml a t0 n= 28	20 (71.4)	7 (25)	1 (3.6)
Pz con HIV RNA > 40 copie/ml a t0 n=4	2 (50)	2 (50)	0

Il confronto dei valori assoluti e percentuali dei linfociti CD4+ sono stati eseguiti per i gruppi con maggior numerosità della tabella soprastante, escludendo cioè i gruppi composti da viremia superiore alle 40 copie/mL sia al baseline che al 24° mese di follow-up.

Tale analisi è quindi stata condotta dopo 24 mesi nei 40 pazienti risultati con viremia non rilevabile al baseline (Gruppo NR al t0) e nei 28 pazienti con viremia inferiore alle 40 copie/mL al baseline (Gruppo <40 copie/mL al t0).

Ad eccezione di un miglioramento a 24 mesi nel numero assoluto, ma non percentuale, delle cellule CD4+ rispetto al baseline del gruppo <40copie/mL – NR (*p value* = 0.0046) non si sono riscontrate altre differenze statisticamente significative. Nel complesso i pazienti in terapia con 3TC+DTG hanno dimostrato un buon aumento del numero assoluto delle cellule CD4+ in 24 mesi, mentre il valore percentuale è rimasto pressoché invariato.

**Tabella 8:** Descrizione dell'evoluzione dei numeri assoluti e percentuali delle cellule CD4+ nei 4 gruppi con maggior numerosità relativi alla Tabella 7

	Cellule CD4+ alla semplificazio ne (cellule/mm <sup>3</sup> )	Cellule CD4+ a 24 mesi di follow-up (cellule/mm <sup>3</sup> )	<i>p</i>	Cellule CD4+ % alla semplificazi one	Cellule CD4+ % a 24 mesi di follow- up	<i>p</i>
Gruppo NR - NR, n=31	582 (510-704)	619 (525-765)	0.0619	35.5 (26.2-40.3)	35.9 (25-40.7)	0.2548
Gruppo NR - <40 copie/ml n=5	748 (489-1005)	724 (511-860)	0.6250	29.1 (26.9-36.4)	29.3 (25.7-34)	0.62
Gruppo < 40 copie/ml - NR, n=20	737 (593-979)	881 (616-999)	<b>0.0046</b>	34.6 (25.6-40.8)	34.5 (26-40.3)	0.3935
Gruppo < 40 copie/ml - < 40 copie/ml n=7	548 (395-827)	780 (451-994)	0.0625	29.7 (19.1-33.5)	31.8 (20.8- 40.2)	0.06

È stato inoltre stato analizzato il valore del nadir delle cellule CD4+ in questi quattro gruppi di pazienti, al fine di valutare se i due gruppi in cui si è riscontrato un lieve peggioramento nel controllo virologico (il gruppo NR al t0 - <40 copie/mL al t24 ed il gruppo <40 copie/mL al t0 - <40 copie/mL al t24) presentassero valori di tale parametro più bassi rispetto agli altri due gruppi. Tale ipotesi sembra confermata dalla tabella sottostante, anche la scarsa numerosità di alcuni gruppi pone in dubbio la significatività di tali riscontri (in riferimento ai numeri assoluti della tabella seguente: p value=0.9100 per 182 vs 138, p value=0.1506 per 182 vs 222, p value=0.4926 per 182 vs 135, p value=0.1842 per 138 vs 222, p value=0.6389 per 128 vs 135 ed infine p value=0.1349 per 222 vs 135)

**Tabella 9:** Valori del nadir CD4+ nei sottogruppi individuati dalla tabella 8

	Mediana	IQR
Nadir CD4+ gruppo NR t0-NR t24 (cellule/ $\mu$ L)	182	43-264
Nadir CD4+ gruppo NRt0-<40cp/mL t24	135	19-210
Nadir CD4+ gruppo <40cp/mL t0-NR t24	222	159-311
Nadir CD4+ gruppo <40cp/mL t0-<40cp/mL t24	138	88-234

### **Valutazione della risposta immuno-virologica a 24 mesi nei pazienti in terapia 2DR comprendete PIs:**

A 24 mesi dalla semplificazione si dispone dei dati immuno-virologici di **14** pazienti, di cui 12 di questi (85.7%) sono risultati con viremia non rilevabile al follow-up dopo due anni. 1 paziente (il 7.15%) è risultato presentare viremia inferiore alle 40 copie/mL al tempo t24 di follow-up ed un altro (7.15%) ha presentato viremia superiore alle 40 copie/mL.

Il 58.3% dei pazienti (7 su 12) risultati con viremia non rilevabile al tempo di follow-up t24 risultava non rilevabile anche al momento della semplificazione, mentre solo l'8.3% (1 su 12) dei pazienti NR al t24 risultavano presentare una viremia baseline superiore alle 40 copie/mL. Anche in questo caso sono i pazienti con viremia inferiore alle 40 copie/mL al baseline a dimostrare un controllo virologico peggiore rispetto ai pazienti con viremia NR al momento della semplificazione, con il 20% dei soggetti (1 paziente su 5) che, da una viremia <40 copie/mL al t0, presentano una viremia >40 copie/mL al t24.

Nel complesso il 92.9% dei pazienti ha dimostrato mantenere un soddisfacente controllo virologico a 24 mesi.

Vista la scarsa numerosità si è deciso di confrontare solamente la viremia, e non i valori assoluti e percentuali dei linfociti CD4+, nei 9 sottogruppi ottenuti in base alla viremia baseline e al tempo t24 di follow-up. Le percentuali di pazienti con vari valori di viremia al baseline che risultano non rilevabili al t24 sembrano sovrapponibili nonostante il dato potrebbe non essere statisticamente significativo. In particolare le percentuali di pazienti risultati non rilevabili al follow-up a due anni sono le seguenti: l'87.5% dei pazienti che presentavano non-rilevabilità viremica al t0, l'80% dei pazienti che presentavano meno di 40 copie/mL al t0, ed il 100% dei

pazienti che al t0 presentavano copie maggiori alle 40 per mL (con p value=1 per i vari confronti percentuali: 87.5% vs 80%, 87.5% vs 100% e 80% vs 100%).

**Tabella 10:** Descrizione dei valori di viremia plasmatica dopo 24 mesi di terapia 2DR comprendente Inibitori di Proteasi

	Pz con HIV RNA NR a t24 n=12	Pz con HIV RNA < 40 copie/ml a t24 n= 1	Pz con HIV RNA > 40 copie/ml a t24 n=1
Pz con HIV RNA NR a t0 n=8	7 (87.5%)	1 (12.5%)	0
Pz con HIV RNA < 40 copie/ml a t0 n= 5	4 (80%)	0	1 (20%)
Pz con HIV RNA > 40 copie/ml a t0 n=1	1 (100%)	0	0

Considerata la numerosità di tali gruppi non è stato possibile effettuare il confronto dei valori assoluti e percentuali dei linfociti al baseline ed al tempo di follow-up qui studiato.

### **Valutazione della risposta immuno-virologica a 24 mesi nei pazienti in terapia con altri regimi terapeutici a due farmaci:**

I pazienti che disponevano dei dati immuno-virologici a 24 mesi in tali regimi di terapia alternativi erano **8**, di cui 5 (62.5%) sono risultati presentare viremia non rilevabile al follow-up a 24 mesi. I restanti 3 pazienti (37.5%) hanno presentato una viremia inferiore alle 40 copie/mL al 24° mese.

Date la scarsa numerosità è possibile limitarsi ad affermare che nessun paziente ha presentato viremie superiori alle 40 copie/mL al 24° mese e che le percentuali di pazienti dei due gruppi che sono risultati avere una viremia non rilevabile al follow-up sono risultate in linea con le previsioni (100% per il gruppo con viremia non rilevabile al t0, e 50% per il gruppo con viremia inferiore alle 40 copie/mL al t0, p value=0.464)

Il gruppo di 6 pazienti con viremia inferiore alle 40 copie/mL alla semplificazione ha presentato una percentuale maggiore, rispetto al gruppo con viremia non rilevabile al baseline, di soggetti con minima viremia residua a 24 mesi (50% vs 0% p value=0.464) ma tali dati potrebbero non godere di solidità statistica vista la bassa numerosità

Sempre avendo espresso le dovute cautele statistiche si nota che il 100% dei soggetti sono risultati mantenere un buon controllo virologico a 24 mesi.

**Tabella 11:** Descrizione dei valori di viremia plasmatica dopo 24 mesi di terapia 2DR con altri regimi terapeutici.

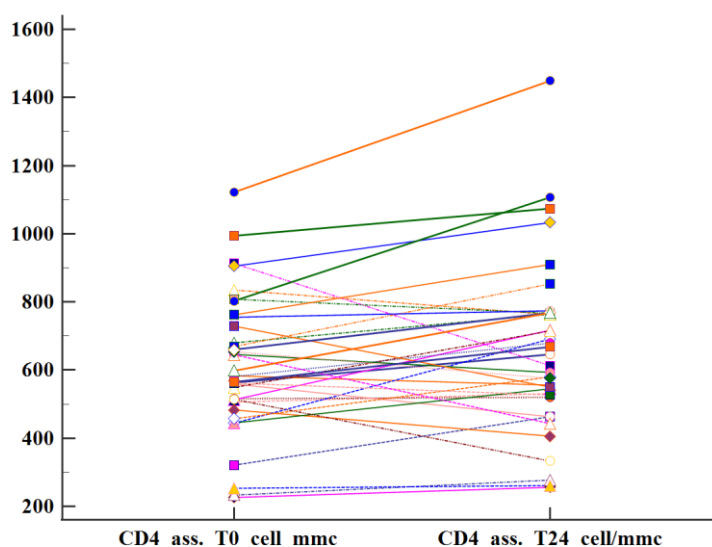
	Pz con HIV RNA NR a t24 n=5	Pz con HIV RNA < 40 copie/ml a t24 n= 3	Pz con HIV RNA > 40 copie/ml a t24 n=0
Pz con HIV RNA NR a t0 n=2	2 (100)	0	0
Pz con HIV RNA < 40 copie/ml a t0 n= 6	3 (50)	3 (50)	0

Considerata la numerosità di tali gruppi non è stato possibile effettuare il confronto dei valori assoluti e percentuali dei linfociti al baseline ed al tempo di follow-up qui studiato.

**Confronto del numero assoluto delle cellule CD4+ nella popolazione complessiva con viremia non rilevabile sia al baseline che al tempo di follow-up t24.**

Si sono confrontati i valori assoluti e percentuali delle cellule CD4+ al baseline ed al tempo di follow-up t24 nel sottogruppo di pazienti risultati con viremia non rilevabile sia al baseline che al t24 (in ascissa “All-NR-NR”), sottogruppo che includeva tali soggetti indipendentemente dalla duplice terapia assunta. I pazienti di cui si sono confrontati i dati sono 40, di cui 31 pazienti in terapia con 3TC+DTG, 7 pazienti in una duplice terapia contenente PIs e 2 pazienti con altri regimi terapeutici. Se per quanto riguarda i valori percentuali di cellule CD4+ non si è notata una differenza statisticamente significativa, per i valori assoluti invece si è riscontrato un aumento significativo di tale popolazione linfocitaria dopo 24 mesi di follow-up, con valori mediani e range interquartili di 582 cellule/ $\mu$ L (509-742) al t0 e 629 cellule/ $\mu$ L (523-767) al t24 con *p value* = 0.0443.

A seguire vi è il grafico che rappresenta tale andamento nella popolazione complessiva di 40 pazienti: in ascissa vi sono i due tempi di follow-up, rispettivamente al momento della semplificazione e 24 mesi dopo.



**Figura 14:** evoluzione del numero assoluto CD4+ nei soggetti NR-NR

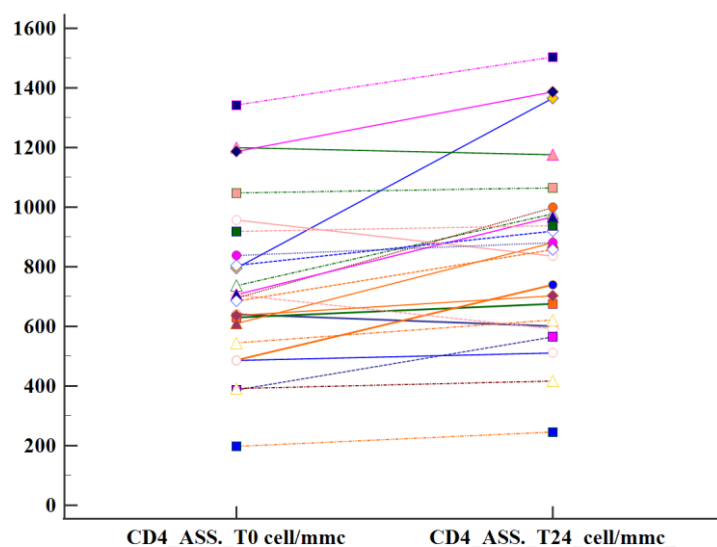
**Confronto del numero assoluto delle cellule CD4+ nella popolazione complessiva con viremia inferiore alle 40 copie/mL al baseline e non rilevabile al tempo di follow-up t24.**

Analogamente a quanto descritto nel paragrafo precedente si è effettuato lo stesso confronto dei valori assoluti e percentuali delle cellule CD4+ in un gruppo differente, ovvero quello con viremia inferiore alle 40 copie/mL al baseline ma che è poi risultato presentare viremia non rilevabile 24 mesi dopo (in ascissa “27 pz less[40cp/mL] - NR), selezione che non ha escluso pazienti in base al regime di duplice terapia assunta.

Si sono analizzati quindi 27 pazienti nel complesso, di cui 20 pazienti assumevano 3TC+DTG, 4 pazienti una duplice terapia contenente PIs ed infine 3 pazienti che assumevano regimi differenti dai primi due.

Anche in questo caso i valori percentuali dei linfociti CD4+ non hanno dimostrato significative variazioni nei due diversi tempi di studio, mentre i valori assoluti hanno dimostrato un incremento statisticamente significativo dopo 24 mesi dalla semplificazione, con i seguenti riscontri di valori mediani e di range interquartili: 700 cellule/ $\mu$ L (577-878) al t0 e 869 cellule/ $\mu$ L (611-988) al t24 con *p value* = 0.0010.

Il seguente grafico mostra ciò che è stato appena affermato per questi 27 pazienti studiati: in ascissa vi sono i due tempi di follow-up, rispettivamente al momento della semplificazione e 24 mesi dopo.



**Figura 15:** evoluzione del numero assoluto CD4+ nei soggetti <40cp/mL-NR

#### **DNA provirale su PBMCs e risposta virologica.**

L'analisi del reservoir virale su cellule periferiche mononucleate è risultata disponibile per 43 pazienti. Si sono raccolti i dati relativi all'HIV-RNA di tali pazienti rispettivamente 12 e 6 mesi prima della semplificazione e 12 e 24 mesi dopo la semplificazione. Il dato relativo all'analisi di HIV-DNA provirale è stato riportato come inferiore o superiore alle 130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs. I dati virologici pre-semplificazione sono risultati disponibili per 43 pazienti, a 12 mesi dalla semplificazione sono risultati disponibili per 40 pazienti ed a 24 mesi per 37 pazienti.

La tabella sottostante è relativa alla valutazione dei livelli di viremia nei due gruppi dei pazienti 12 mesi prima della semplificazione. Si nota che una percentuale più alta dei pazienti con HIV-DNA inferiore alle 130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs hanno dimostrato non rilevabilità a tale rilevazione rispetto ai pazienti con >130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs (75% vs 44.4%, p value = 0.064360). In questo caso il dato si avvicina alla significatività statistica. Similmente un peggior controllo è stato presentato da quei pazienti con >130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs.

**Tabella 12:** *Viremia in relazione al DNA provirale 12 mesi prima della semplificazione*

	HIV RNA NR, n=24	HIV RNA < 40 copie/ml, n=16	HIV RNA > 40 copie/ml, n= 3
Gruppo <130 copie/10 <sup>6</sup> PBMCs, n=16	12 (75)	3 (18.7)	1 (6.3)
Gruppo >130 copie/10 <sup>6</sup> PBMCs, n=27	12 (44.4)	13 (48.1)	2 (7.5)

Anche 6 mesi prima dalla semplificazione i risultati sono risultati simili, con una percentuale significativamente più alta di pazienti risultati presentare viremia non rilevabile tra il gruppo <130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs, rispetto al gruppo >130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs, (87.5% vs 55.6% p value = 0.044713).

**Tabella 13:** *Viremia in relazione al DNA provirale 6 mesi prima della semplificazione*

	HIV RNA NR, n=29	HIV RNA < 40 copie/ml, n=12	HIV RNA > 40 copie/ml, n= 2
Gruppo <130 copie/10 <sup>6</sup> PBMCs, n=16	14 (87.5)	2 (12.5)	0
Gruppo >130 copie/10 <sup>6</sup> PBMCs, n=27	15 (55.6)	10 (37)	2 (7.4)

Migliori risultati in termini di controllo virologico sono stati sperimentati dai pazienti del gruppo <130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs, anche a 12 e 24 mesi dopo la semplificazione. In particolare di seguito è riportata la tabella relativa alle rilevazioni effettuate nei 40 pazienti di cui si disponevano dei dati a 12 mesi dalla semplificazione. A 12 mesi il 93.3% dei pazienti del gruppo <130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs, ha presentato viremia non rilevabile, dimostrando un aumento significativo rispetto alla percentuale presentata dal gruppo >130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs, (56%) con p value = 0.015126. Anche in questo caso si può notare come i pazienti del gruppo >130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs, dimostrino un peggior controllo rispetto ai pazienti del gruppo <130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs, dimostrando più alte percentuali di viremie detectable ma inferiori alle 40 copie/mL (40% vs 6.7%).

**Tabella 14:** *Viremia in relazione al DNA provirale 12 mesi dopo la semplificazione*

	HIV RNA NR, n=28	HIV RNA < 40 copie/ml, n=11	HIV RNA > 40 copie/ml, n= 1
Gruppo <130 copie/10 <sup>6</sup> PBMCs, n=15	14 (93.3)	1 (6.7)	0
Gruppo >130 copie/10 <sup>6</sup> PBMCs, n=25	14 (56)	10 (40)	1 (4)

La tabella seguente si riferisce alla valutazione virologica effettuata a 24 mesi nei due gruppi di pazienti. Si nota ancora una volta come il gruppo <130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs, presenti un miglior controllo virologico anche in seguito alla semplificazione rispetto al gruppo >130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs, (87.5% di pazienti con viremia non rilevabile nel gruppo <130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs, vs 61.9% nel gruppo >130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs,). In questo caso però tale aumento non risulta statisticamente significativo (p value = 0.136768).

**Tabella 15:** *Viremia in relazione al DNA provirale 24 mesi dopo la semplificazione*

	HIV RNA NR, n=27	HIV RNA < 40 copie/ml, n=8	HIV RNA > 40 copie/ml, n= 2
Gruppo <130 copie/10 <sup>6</sup> PBMCs, n=16	14 (87.5)	2 (12.5)	0
Gruppo >130 copie/10 <sup>6</sup> PBMCs, n=21	13 (61.9)	6 (28.6)	2 (9.5)

## DISCUSSIONE:

Le caratteristiche anagrafiche della popolazione in studio, 134 pazienti, sono risultate più o meno simili rispetto a quelle dei pazienti descritti da alcuni trials con cui si sono confrontati i dati qui presentati. In particolare l'etnicità dei soggetti in studio è risultata molto simile a quella presentata nello studio *TANGO* (con meno del 20% di persone straniere), mentre è risultata differente da quella descritta dallo studio *SALSA* in cui i pazienti di origine africana, afrodiscendente o asiatica hanno rappresentato il 33% complessivo. Anche dal punto di vista dell'età e della percentuale di donne incluse nello studio si nota una somiglianza rispetto allo studio *TANGO* mentre si nota una differenza rispetto allo studio *SALSA* in cui l'età mediana risulta più alta (45 anni) e le donne rappresentano il 44% dei soggetti.

Rispetto ai trial appena citati si sono inclusi anche dei pazienti con precedenti fallimenti virologici (25 pazienti su 134, il 18.7%).

La percentuale di soggetti con positività anticorpale per l'antigene HBc è risultata essere 32.1%, in linea con diversi studi (19,84) e la percentuale di pazienti con positività ad anticorpi anti-HCV è risultata essere il 27.6%, dato in linea con le prevalenze che si riscontrano in letteratura (fino al 50%).

### *Semplificazione:*

La maggior parte dei pazienti è stata semplificata con un regime terapeutico composto da Dolutegravir e Lamivudina in quanto tale combinazione ha presentato un miglior profilo di efficacia e sicurezza in numerosi trials rispetto alle altre disponibili.

Più nello specifico tale combinazione presenta minori interazioni farmacologiche e complicanze in termini metabolici rispetto ai regimi di duplice terapia comprendenti gli inibitori delle proteasi, e si può assumere indipendentemente dall'assunzione di cibo, a differenza della formulazione con 3TC e Rilpivirina (59).

Alla semplificazione 76 pazienti presentavano valori di viremia non rilevabili (56.7%) ed un valore assoluto mediano delle cellule CD4+ di 641 cellule per microlitro (496.5-824 IQR disponibile per 120 pazienti). Solo 9 presentavano valori di HIV-RNA superiori alle 40 copie/mL pertanto nel complesso i soggetti studiati presentavano un buono stato immunovirologico.

A tal proposito però, numerose sono le evidenze che correlano lo stato di viremia rilevabile ma inferiore alle 50 copie/mL, presentato nel nostro caso dal 36.6% dei pazienti (con HIV-RNA inferiore alle 40 copie/mL ma detectable), con una ridotta capacità di controllo immuno-

virologico, maggiori tassi di fallimento virologico, progressione della malattia ed insorgenza di resistenze (77,80,81).

Il terzo farmaco più utilizzato, in ordine decrescente, nei regimi di triplice terapia era un NNRTI (58 pazienti su 134, il 43,4%), un INSTI (35 pazienti su 134, 26.1%), un PI (33 pazienti su 134, 24.6%). 8 pazienti (5.9%) avevano assunto invece terapia alternative a quelle sopra elencate. È interessante riportare gli *anchor drug* utilizzati nelle 3DR di vari trials in cui si è poi effettuata la semplificazione a 2DR: nello studio *TANGO* come terzo farmaco nelle CARs (*Current Antiretroviral Regimens*) si è utilizzato un INSTI nel 78% dei casi, un NNRTI (14%) oppure un PIs (8%) mentre nello studio *SALSA* si è utilizzato maggiormente un NNRTI (50%) ed a seguire un INSTI (40%) o un PI (10%).

La maggior parte dei pazienti in triplice terapia con INSTIs ha effettuato lo switch terapeutico verso una duplice terapia contenente a sua volta un INSTIs (91.4%) come anche la maggior parte dei pazienti in triplice terapia con NNRTIs (91.4%). Circa la metà (42.4%) dei pazienti in terapia con triplici terapie contenenti PIs hanno conservato tale classe farmacologica nel regime di duplice terapia, l'altra metà (42.4%) è passata ad utilizzare un INSTIs nella duplice terapia. Tali dati sono in linea con la tendenza a prediligere gli INSTIs nei regimi a duplice terapia, visti efficacia, sicurezza e tollerabilità che hanno dimostrato in grandi trials, ed in linea con i principi generali di switch terapeutico volti ad assicurare la sicurezza e l'efficacia nello switch inter-classe o cross-classe attraverso il passaggio a farmaci con uguale o superiore potenza e barriera genetica alle mutazioni.

Indipendentemente dalle terapie assegnate il 92% (115 soggetti su 125) dei pazienti in duplice terapia ha mantenuto un buon controllo virologico a 12 mesi. Nello specifico si analizzeranno ora i pazienti in base al regime terapeutico assunto.

Dei 105 pazienti in terapia con 3TC+DTG sono risultati disponibili dati a 12 mesi ed a 24 mesi rispettivamente per 93 e 72 pazienti.

Tali pazienti presentavano una viremia non rilevabile a 12 mesi nel 97.8% dei casi (91 su 93), dato che risulta in linea con il trial più importante a supporto di tale combinazione terapeutica, il trial *TANGO*, che ha dimostrato soppressione virologica a 48 settimane nel 93.2% dei pazienti (58). Tale risultato risulta coerente con un altro trial, lo studio *SALSA* (15), in cui si è semplificata la terapia di 246 pazienti con differenti 3DR HAART di partenza, dove la soppressione virologica è stata ottenuta per il 94% dei pazienti a 48 settimane. Il risultato da noi ottenuto è incoraggiante se comparato al risultato fornito da una meta-analisi che valuta

oltre tremila pazienti (16) in cui la percentuale di pazienti in soppressione virologica a 12 mesi è dell'85%.

Al 12° mese di follow-up i soggetti che presentavano viremia inferiore alle 40 copie/mL presentavano più frequentemente una viremia baseline inferiore alle 40 copie/mL rispetto ad una viremia non rilevabile al baseline (25.9% vs 35.9%), e solo due pazienti hanno presentato una viremia a 12 mesi superiore alle 40 copie/mL, tutti e due appartenenti al sotto-gruppo caratterizzato da viremia inferiore alle 40 copie/mL al momento della semplificazione (5.1%). Tale riscontro è in linea con l'evidente associazione, nota in letteratura, tra viremia detectable con i sistemi di rilevazione comunemente disponibili ed un peggior controllo virologico nella successiva semplificazione.

I pazienti che presentavano viremia superiore alle 40 copie/mL al 12° mese sono risultati essere il 2.16%, in linea con le percentuali di pazienti con viremia superiore alle 50 copie/mL a 12 mesi fornite dagli studi *TANGO* e *SALSA*, ovvero lo 0.3% e lo 0.4% rispettivamente. Nello studio di meta-analisi sopra citato (88) la percentuale di pazienti che sperimenta fallimento virologico si attesta all'1% dopo 48 settimane.

Per quanto riguarda il confronto dei valori assoluti e percentuali delle cellule CD4+ tra i sottogruppi individuati dai valori di viremia baseline ed al 12° mese di follow-up non si sono riscontrate differenze statisticamente significative, mentre in vari trials si sono riscontrati aumenti statisticamente significativi di almeno 20 cellule su microlitro a 12 mesi (59,88). Forse a causa della scarsa numerosità è emerso che nei pazienti con migliore controllo virologico (gruppo con viremia non rilevabile sia al baseline che dopo 12 mesi) i valori assoluti delle cellule CD4+ al baseline ed al follow-up sono risultati più bassi rispetto agli altri gruppi. In ogni caso secondo le linee guida SIMIT (35) il parametro immunologico risulta avere minore importanza rispetto al parametro virologico.

Nel complesso quindi nei pazienti in terapia con regime 3TC+DTG è stato mantenuto un buon controllo immunologico e virologico al 12° mese dalla semplificazione, in linea con quanto atteso.

Per quanto riguarda la valutazione a 12 mesi dei pazienti in duplice terapia contenente inibitori di proteasi (principalmente 3TC+ATV/c) disponiamo dei dati viro-immunologici per 16 di essi: il 93.7% (15 su 16) ha mantenuto un buon controllo virologico al follow-up, in linea con la letteratura scientifica. In particolare a 48 settimane risultano virologicamente soppressi l'89.5% dei pazienti nel trial *ATLAS-M* (nel braccio di studio ATV/c + 3TC), l'84% dei pazienti nel trial *SALT* (sempre con duplice terapia ATV/c+3TC) e l'88.9% dei pazienti nel trial *DUAL GESIDA* in cui si assegnava al braccio in semplificazione Lamivudina e DRV/r [(74,75,89)].

Anche in questo caso è stato possibile affermare che, nel complesso, i pazienti con viremia non rilevabile al baseline hanno dimostrato un miglior controllo virologico a 12 mesi di follow-up rispetto a quelli con viremia inferiore alle 40 copie/mL al momento della semplificazione, come dimostrato nella sezione *Risultati*. L'unico caso di viremia superiore alle 40 copie/mL si è riscontrato però nel gruppo di pazienti con viremia non rilevabile al baseline e probabilmente è da considerarsi un dato privo di significato specifico dovuto alla bassa numerosità.

Ciononostante, il valore percentuale rilevato di soggetti con viremia superiore alle 40 copie/mL al 12° mese di follow-up (6.3%) può dirsi in linea con quelli presenti in letteratura. Nello studio ATLAS-M fallimenti virologici si sono riscontrati nell'1.5% dei pazienti, nello studio *SALT* invece nel 5% dei pazienti mentre nello studio *DUAL* nel 3.2% dei pazienti: tali dati si riferiscono a due rilevazioni consecutive superiori alle 50 copie/mL pertanto non sono confrontabili con i nostri risultati se non con dovuta approssimazione.

Per quanto riguarda il controllo immunologico è possibile affermare che sia stato mantenuto, non avendo rilevato differenze statisticamente significative in termini di numero assoluto e percentuale delle cellule CD4+ al 12° mese dalla semplificazione rispetto al baseline nei due sottogruppi con viremia non rilevabile dopo un anno.

Tali differenze, non statisticamente significative, sono in linea con quelle riscontrate nei vari trials citati: nello studio *ATLAS-M* non sono stati descritti cambiamenti significativi nel numero assoluto delle cellule CD4+ a 12 mesi, nello studio *SALT* si è notato un lieve aumento (+11 cellule per microlitro) a 48 settimane come anche nello studio *DUAL* si è notato un aumento di 33 cellule per microlitro dopo un anno dalla semplificazione.

Si nota ancora una volta che i valori più alti di cellule CD4+ al baseline sono presentati dal sottogruppo con viremia inferiore alle 40 copie/mL al momento della semplificazione piuttosto che dal gruppo con viremia non rilevabile al baseline (620 cellule/μL vs. 513 cellule/μL), osservazione che potrebbe essere di poca importanza a causa della scarsa numerosità del campione.

È stata eseguita la valutazione a 12 mesi dei pazienti che assumevano regimi di terapia alternativi ai precedenti. La tabella dei regimi terapeutici assegnati è stata presentata nel paragrafo precedente. Su 10 pazienti 4 presentavano una storia di numerosi fallimenti terapeutici (rispettivamente 3, 4, 5 e 6 fallimenti prima del regime di duplice terapia assegnato). 5 pazienti su 10 hanno assunto un regime con 1 INSTIs + 1 PIs, 3 pazienti un regime di 1NRTIs + 1 INSTIs, 2 pazienti infine un regime di 1INSTIs + 1 NNRTIs.

Nel complesso il 90% dei pazienti ha dimostrato un buon controllo virologico a 12 mesi, e il 100% dei pazienti con viremia baseline non rilevabile ha mantenuto tale risultato anche ad un

anno di follow-up, a riprova del fatto che il controllo virologico risulta più facile nei pazienti con miglior controllo virologico alla semplificazione.

La percentuale dei pazienti con un buon controllo virologico è in linea con quella fornita dallo studio *DUALIS* (in cui il braccio di pazienti in semplificazione assumeva DTG+DRV/r che risulta essere la terapia più assunta nel nostro sottogruppo in studio) che si attesta a 86.3% dei pazienti a 48 settimane (90). In tale studio i fallimenti virologici sono risultati l'1.6% sul totale dei pazienti in duplice terapia: la scarsa numerosità del sottogruppo da noi esaminato (10 pazienti con 1 paziente con viremia superiore alle 40 copie/mL, ovvero il 10%) potrebbe spiegare come mai il nostro dato (10%) si discosta da quello descritto dallo studio *DUALIS* (90). Il sottogruppo di pazienti con HIV-RNA inferiore alle 40 copie/mL al baseline ha dimostrato un peggior controllo virologico, in linea con le evidenze in letteratura.

La valutazione dei linfociti CD4+, in termini di numero assoluto e percentuale, del sottogruppo con viremia non rilevabile sia al baseline che 12 mesi dopo la semplificazione (4 pazienti) non ha presentato differenze statisticamente significative.

#### *Valutazione a 24 mesi*

Circa la valutazione dei 94 pazienti studiati fino a due anni dalla semplificazione si è notato che 88 di loro (il 93.6%) hanno mantenuto una buona risposta virologica a tale tempo di follow-up. Tale dato è molto buono se comparato ai risultati dimostrati da vari trials per specifici regimi terapeutici che si esporranno a breve.

Nel complesso, è interessante notare che 27 su 39 pazienti (69.2%), indipendentemente dal regime terapeutico assunto, con viremia <40copie/mL al baseline sono passati ad una viremia non rilevabile dopo 24 mesi di follow-up.

Nei 72 pazienti in terapia con 3TC+DTG il 93.1% dei soggetti (67 su 72) hanno mantenuto una buona risposta virologica a 2 anni di follow-up, in linea con l'86% riscontrato dallo studio *TANGO* a 96 settimane.

Il 73.6% ha presentato viremia non rilevabile a 24 mesi di follow-up, dato in linea con il 76% descritto a 144 settimane dallo studio *TANGO* e dal 79.4% presentato nello studio italiano di Malagnino et al. (19,40).

Il 6.9% (5 su 73) dei pazienti ha presentato una viremia superiore alle 40 copie/mL: tale dato si discosta un poco dalle percentuali presentate in vari studi, come notato dallo studio *TANGO* in cui il riscontro di tale viremia occorre nello 0.3% dei casi e da uno studio di meta-analisi che attesta all'1% l'insorgenza di fallimenti virologici a 96 settimane (40,85)

Il confronto dei dati virologici a 24 mesi nei tre sottogruppi di pazienti con HIV-RNA non rilevabile, inferiore alle 40 copie/mL o superiore alle 40 copie/mL, ha dimostrato che i pazienti

con viremia non rilevabile al baseline mantengono un miglior controllo virologico ai tempi successivi anche se le differenze non sono risultate statisticamente significative. Sembra però che tra i pazienti con viremia inferiore alle 40 copie/mL alla semplificazione, i migliori risultati in termini di controllo virologico si siano ottenuti proprio con la combinazione 3TC+DTG rispetto alle altre prese in esame. Ciò è compatibile con gli studi in letteratura che suggeriscono la scelta di tale combinazione rispetto ad altre come regime di duplice terapia.

Anche dal punto di vista del controllo immunologico si sono riscontrati dati in linea con le aspettative: nel complesso nessun decremento statisticamente significativo dei valori assoluti e percentuali delle cellule CD4+ è stato riscontrato dopo 24 mesi di follow-up. Si sono riscontrati anzi dei lievi aumenti in quasi tutti i sottogruppi analizzati dei valori assoluti delle cellule CD4+/ $\mu$ L ed un aumento statisticamente significativo di tali valori nel sottogruppo con viremia inferiore alle 40 copie/mL al baseline e HIV-RNA non rilevabile a due anni dalla semplificazione, con valori di 737 cellule CD4+/ $\mu$ L (593-979 IQR) vs 881 cellule CD4+/ $\mu$ L (616-999 IQR) con un p value di 0.0046.

Anche in questo caso si è notato che alla semplificazione i pazienti con miglior controllo virologico (appartenenti al sottogruppo con viremia non rilevabile sia alla semplificazione che due anni dopo) hanno presentato il numero assoluto più basso di linfociti CD4+, forse per via della scarsa numerosità degli altri gruppi.

Si è effettuata un'ulteriore sub-analisi nei quattro sottogruppi con viremia inferiore alle 40 copie/mL o non rilevabile al baseline ed al tempo di follow-up di 24 mesi, per valutare se nei vari gruppi il nadir delle cellule CD4+ fosse in qualche modo correlato ad un peggior controllo virologico.

I risultati, statisticamente significativi, hanno confermato tale ipotesi pienamente in linea con le evidenze della letteratura scientifica.

In particolare si è notato che livelli più bassi di nadir delle cellule CD4+ sono stati presentati da quei pazienti che a 24 mesi hanno dimostrato un lieve peggioramento nel controllo virologico: tali risultati, riportati nella sezione dedicata con i relativi *p values*, non sono però risultati statisticamente significativi.

Risultati in linea con quelli qui descritti per il regime terapeutico 3TC+DTG si sono riscontrati a 24 mesi dalla semplificazione anche per i pazienti in semplificazione con Inibitori di Proteasi. Su 14 pazienti studiati, di cui 8 con viremia non rilevabile al baseline e solo uno con viremia superiore alle 40 copie/mL al momento della semplificazione, ben 13 (il 92.9%) hanno

mantenuto un buon controllo virologico a 24 mesi, in linea con i dati forniti dallo studio *ATLAS-M* (in cui il 77.4% non ha sperimentato fallimenti virologici a 96 settimane) (22).

Anche in questi pazienti in terapia con inibitori di proteasi si nota che un miglior controllo virologico si ha nei soggetti con viremia non rilevabile al baseline rispetto ai soggetti con minime viremie residue alla semplificazione, anche se i dati non godono di significatività statistica ( $p\ value=1$ ).

Il 6.3% dei pazienti (1 paziente su 16) ha presentato viremia superiore alle 40 copie/mL a 24 mesi, dato che non si discosta particolarmente da quelli presenti in letteratura: fallimenti virologici sono stati riscontrati dall'1.5% dei pazienti nello studio *ATLAS-M* a 96 settimane e dal 3% dei pazienti dallo studio *SALT* sempre a 96 settimane. Lo studio *ATLAS-M* ha anche raccolto risultati, in assenza di braccio di controllo, a 144 settimane, evidenziando una percentuale di pazienti che sperimentavano fallimento virologico del 5% (89,91,92)

Non si sono confrontati i valori assoluti e percentuali delle cellule CD4+ in tali pazienti vista la scarsa numerosità.

Per quanto riguarda i pazienti che assumevano altri regimi terapeutici rispetto ai due sopra descritti, si è notato che tutti ed 8 i soggetti studiati (100%) hanno mantenuto un buon controllo virologico, ma la scarsa numerosità potrebbe non conferire a tale riscontro una significativa solidità statistica.

Gli unici soggetti con viremia inferiore alle 40 copie/mL a due anni di follow-up (3 su 6, il 50%) presentavano viremia al baseline inferiore alle 40 copie/mL, a riprova del fatto che un miglior controllo al baseline predice un miglior controllo nei tempi successivi di follow-up.

Non si sono confrontati i valori assoluti e percentuali delle cellule CD4+ in tali pazienti vista la scarsa numerosità.

Si sono infine confrontati i valori assoluti e percentuali dei linfociti CD4+ nei due gruppi di pazienti, indipendentemente dalla terapia assunta, con viremia non rilevabile al baseline e con viremia inferiore alle 40 copie/mL.

In entrambi i gruppi, per il numero assoluto delle cellule CD4+, si sono rilevati incrementi statisticamente significativi ( $p\ value = 0.0443$  e  $p\ value = 0.0010$ ), con aumento nel primo gruppo di circa 50 cellule per microlitro partendo da valori di 582 cellule/ $\mu$ L (509-742 IQR) al baseline, e con aumento di oltre 150 cellule per microlitro nel secondo gruppo partendo da valori di 629 cellule/ $\mu$ L (523-767 IQR) al baseline.

Anche in questo caso si riscontrano più bassi valori assoluti di cellule CD4+ al baseline ed al tempo di follow-up qui studiato nel gruppo che risulta controllare meglio la viremia nel tempo

con rispettivamente valori al baseline di 582 cellule/ $\mu\text{L}$  a 700 cellule/ $\mu\text{L}$  e valori a 24 mesi di 629 cellule/ $\mu\text{L}$  e 869 cellule/ $\mu\text{L}$ .

Tali aumenti nel numero assoluto delle cellule CD4<sup>+</sup> sono in linea con gli aumenti descritti in vari trials: secondo uno studio italiano con 90 pazienti nel braccio in semplificazione con 3TC+DTG (93) vi è stato un aumento di circa 90 cellule per microlitro in 18 mesi e secondo gli studi *TANGO*, *SALSA*, *SALT*, *DUAL* vi è stato un aumento rispettivamente di 36, 30, 19 e 33 cellule per microlitro dopo 144 settimane, 48 settimane, 96 settimane e 52 settimane. Infine lo studio *ATLAS-M* non ha riscontrato a 96 settimane differenze statisticamente significative nel numero assoluto delle cellule CD4<sup>+</sup>.

I valori percentuali di CD4<sup>+</sup> non hanno dimostrato, in due anni di follow-up, variazioni statisticamente significative nei due gruppi di pazienti.

Sarebbe interessante valutare se i sottogruppi di pazienti che hanno presentato un controllo virologico inferiore rispetto ad altri presentassero mutazioni M184V (e magari fossero in soppressione virologica da meno di 3 anni) oppure si riscontrasse in questi una maggior percentuale di positività per HBcAb rispetto agli altri sottogruppi.

È noto infatti, come descritto nella sezione introduttiva relativa alle criticità dei regimi a duplice terapia, che la presenza di mutazione M184V non è correlata a maggiori fallimenti terapeutici (se i pazienti risultano virologicamente soppressi da diversi anni), ma è correlata a maggior frequenza di *blips* virali.

#### *Valutazione virologica in relazione ai valori di HIV-DNA su PBMCs*

Si sono analizzati i dati relativi alla viremia in 43 pazienti di cui si disponeva dei valori di HIV-DNA su PBMCs. I dati sono risultati disponibili per 43 pazienti nelle valutazioni a 6 e 12 mesi prima della semplificazione e per rispettivamente 40 e 37 pazienti nelle valutazioni a 12 e 24 mesi post-semplificazione.

Nel complesso si nota che il sottogruppo di pazienti (Gruppo <130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs) con valori inferiori alle 130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs ha dimostrato un miglior controllo virologico a tutte le rilevazioni di viremia rispetto al sottogruppo (Gruppo >130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs) con valori superiori di HIV-DNA a 130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs.

Si sono notati, nello specifico, dei miglioramenti statisticamente significativi in termini di controllo virologico (non rilevabilità viremica) nel gruppo <130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs, rispetto al gruppo >130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs, 6 mesi prima della semplificazione e 12 mesi dopo (rispettivamente 87.5% vs 55.6% con p value = 0.044 e 93.3% vs 56% con p value = 0.015126). Non si notano peggioramenti nel controllo virologico nei due gruppi in seguito alla semplificazione rispetto ai valori pre-semplificazione: non si nota tra l'altro nessun

peggioramento nel controllo virologico nei soggetti del gruppo >130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs, in seguito alla semplificazione rispetto alle rilevazioni del gruppo >130 copie/10<sup>6</sup> PBMCs, pre-semplificazione.

Tale risultato è in linea con le conoscenze scientifiche che evidenziano il rapporto tra minori livelli di HIV-DNA e miglior controllo virologico e valutazioni di questo tipo potrebbero risultare molto utili nel migliorare le decisioni del clinico in termini di cambiamento del regime terapeutico o semplificazione di esso.

#### *Valutazione per il passaggio ad una terapia long-acting.*

Il passaggio ad una terapia long-acting con Cabotegravir e Rilpivirina, somministrata per via intramuscolare ogni 4 o 8 settimane (Q4W o Q8W) è ritenuto sicuro ed efficace da linee guida internazionali come le linee guida EACS e DHHS. I presupposti per tale passaggio sono la soppressione virologica nei sei mesi precedenti (con viremia inferiore alle 50 copie/mL), l'assenza di fallimenti virologici, l'assenza documentata di resistenze per INSTIs o NNRTIs (ad eccezione della mutazione K103N) e l'immunità nei confronti di HBV o la vaccinazione nei soggetti non immuni. Inoltre non è la terapia long-acting non è raccomandata in gravidanza o nel caso di contemporanea assunzione con farmaci che potrebbero avere delle interazioni significative con RPV o CAB.

Dalle considerazioni espresse in vari momenti in questa tesi, potrebbe risultare più appropriato proporre una terapia long-acting a quei pazienti con negatività per HBcAb e con valori di HIV-DNA più bassi, in modo da garantire una miglior efficacia a lungo termine e ridurre i rischi di fallimento virologico e sviluppo di resistenze.

Più volte, per concludere, è stato fatto notare che la scarsa numerosità di vari sottogruppi di pazienti costituisce un limite a questo studio: i motivi, più che da ricercare nel design dello studio, riguardano il setting ambulatoriale, dunque di real-world, di questo studio.

## **CONCLUSIONE**

Nel presente studio, analizzando i dati raccolti nel *day hospital* dell'U.O.C di Malattie Infettive di Vicenza, l'efficacia della semplificazione farmacologica con un regime a due farmaci, in pazienti treatment-experienced, in termini di controllo viro-immunologica è risultata in linea con le evidenze scientifiche presenti in letteratura. Il setting ambulatoriale ha rivelato una composizione di pazienti parzialmente differente rispetto a quella indicata da vari studi a supporto delle combinazioni terapeutiche a due farmaci, confermando l'importanza di tali studi

di *real-world* nel trasporre la validità degli studi della letteratura scientifica anche nelle esperienze più concrete della pratica medica locale.

L'efficacia viro-immunologica a 12 ed a 24 mesi è stata dimostrata considerando o meno il regime *2DR* utilizzato, ed aumenti statisticamente significativi si sono riscontrati nel caso del miglioramento a 24 mesi del profilo immunologico complessivo (indipendentemente dalla terapia).

Attraverso l'analisi del nadir delle cellule CD4+ al momento della semplificazione e dopo 24 mesi da essa, in diversi sottogruppi di pazienti, si è mostrato, seppur in modo non statisticamente significativo, che i pazienti con valori di questo parametro più bassi presentavano un peggior controllo virologico nel tempo, evidenza ormai nota in letteratura e riscontrata anche in questo studio. È noto anche che un tempestivo trattamento porti anche ad una riduzione del reservoir virale, con minor rischio di fallimenti ed insorgenza di resistenze a lungo termine e un minor carico di comorbidità associate all'infezione cronica da HIV. (9).

Il regime di duplice terapia più prescritto è rappresentato dalla combinazione di Lamivudina e Dolutegravir (3TC+DTG), in linea con le aggiornate linee guida EACS. Anche nei pazienti che presentavano diversi fallimenti terapeutici pregressi (29 pazienti su 134), tale combinazione è stata la più somministrata.

Si è inoltre dimostrato come il DNA provirale, rilevato a partire dalle cellule mononucleate periferiche, giochi un ruolo importante nel predire il controllo virologico.

I limiti di tale studio sono proprio quelli relativi al contesto di raccolta dei dati, ovvero l'ambito ambulatoriale: diversi pazienti non si sono presentati ad uno o più controlli, i controlli non sono talvolta coincisi con i tempi dello studio per vari motivi, alcuni pazienti hanno sospeso la terapia o hanno scelto di affidarsi ad un altro centro abbandonando lo studio, alcuni pazienti non hanno raggiunto i tempi di follow-up descritti.

Per questi ed altri motivi la numerosità di alcuni sottogruppi non ha permesso di ottenere dati statisticamente solidi, ed il numero di pazienti studiati (134) non è particolarmente elevato rispetto ad altri studi di *real-world* presenti in letteratura.

**BIBLIOGRAFIA**

1. Moroni M. Manuale di malattie infettive. Terza edizione. Milano: Edra; 2020.
2. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology. 8th edition. Philadelphia, PA: Elsevier; 2016. 836 p.
3. Global HIV & AIDS statistics — Fact sheet [Internet]. Disponibile su: <https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>
4. Han WM, Law MG, Egger M, Wools-Kaloustian K, Moore R, McGowan C, et al. Global estimates of viral suppression in children and adolescents and adults on antiretroviral therapy adjusted for missing viral load measurements: a multiregional, retrospective cohort study in 31 countries. *Lancet HIV*. dicembre 2021;8(12):e766–75.
5. UNAIDS data 2022 [Internet]. Disponibile su: [https://www.unaids.org/en/resources/documents/2023/2022\\_unaids\\_data](https://www.unaids.org/en/resources/documents/2023/2022_unaids_data)
6. Economically Disadvantaged | HIV by Group | HIV/AIDS | CDC [Internet]. 2022 [citato 11 marzo 2023]. Disponibile su: <https://www.cdc.gov/hiv/group/poverty.html>
7. EpiCentro. Notiziario Iss-Coa [Internet]. Disponibile su: <https://www.epicentro.iss.it/aids/notiziario-coa>
8. Yang X, Su B, Zhang X, Liu Y, Wu H, Zhang T. Incomplete immune reconstitution in HIV/AIDS patients on antiretroviral therapy: Challenges of immunological non-responders. *J Leukoc Biol*. 1 aprile 2020;107(4):597–612.
9. Khanal S, Schank M, El Gazzar M, Moorman JP, Yao ZQ. HIV-1 Latency and Viral Reservoirs: Existing Reversal Approaches and Potential Technologies, Targets, and Pathways Involved in HIV Latency Studies. *Cells*. 23 febbraio 2021;10(2):475.
10. Poveda E, Tabernilla A, Fitzgerald W, Salgado-Barreira Á, Grandal M, Pérez A, et al. Massive Release of CD9+ Microvesicles in Human Immunodeficiency Virus Infection, Regardless of Virologic Control. *J Infect Dis*. 15 marzo 2022;225(6):1040–9.
11. Serrão R, Piñero C, Velez J, Coutinho D, Maltez F, Lino S, et al. Non-AIDS-related comorbidities in people living with HIV-1 aged 50 years and older: The AGING POSITIVE study. *Int J Infect Dis*. febbraio 2019;79:94–100.

12. HIV/HCV Antiviral Drug Interactions in the Era of Direct-acting Antivirals. *J Clin Transl Hepatol.* 28 settembre 2016;4(3):234–40.
13. Platt L, French CE, McGowan CR, Sabin K, Gower E, Trickey A, et al. Prevalence and burden of HBV co-infection among people living with HIV: A global systematic review and meta-analysis. *J Viral Hepat.* marzo 2020;27(3):294–315.
14. Cheng Z, Lin P, Cheng N. HBV/HIV Coinfection: Impact on the Development and Clinical Treatment of Liver Diseases. *Front Med.* 4 ottobre 2021;8:713981.
15. Raimondo G, Locarnini S, Pollicino T, Levrero M, Zoulim F, Lok AS, et al. Update of the statements on biology and clinical impact of occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol.* agosto 2019;71(2):397–408.
16. HepaICONA and the ICONA Study Groups, Morsica G, Ancarani F, Bagaglio S, Maracci M, Cicconi P, et al. Occult hepatitis B virus infection in a Cohort of HIV-positive patients: Correlation with hepatitis C virus coinfection, virological and immunological features. *Infection.* ottobre 2009;37(5):445–9.
17. Salpini R, Malagnino V, Piermatteo L, Mulas T, Alkhatib M, Scutari R, et al. Cryptic HBV Replicative Activity Is Frequently Revealed in Anti-HBc-Positive/HBsAg-Negative Patients with HIV Infection by Highly Sensitive Molecular Assays, and Can Be Predicted by Integrating Classical and Novel Serological HBV Markers. *Microorganisms.* 18 novembre 2020;8(11):1819.
18. Gómez-Gonzalo M, Carretero M, Rullas J, Lara-Pezzi E, Aramburu J, Berkhout B, et al. The Hepatitis B Virus X Protein Induces HIV-1 Replication and Transcription in Synergy with T-cell Activation Signals. *J Biol Chem.* settembre 2001;276(38):35435–43.
19. Malagnino V, Salpini R, Teti E, Compagno M, Ferrari L, Mulas T, et al. Role of HBcAb Positivity in Increase of HIV-RNA Detectability after Switching to a Two-Drug Regimen Lamivudine-Based (2DR-3TC-Based) Treatment: Months 48 Results of a Multicenter Italian Cohort. *Viruses.* 10 gennaio 2023;15(1):193.
20. Malagnino V, Teti E, Compagno M, Coppola L, Salpini R, Svicher V, et al. HBcAb Positivity Is a Risk Factor for an Increased Detectability of HIV RNA after Switching to a Two-Drug Regimen Lamivudine-Based (2DR-3TC-Based) Treatment: Analysis of a Multicenter Italian Cohort. *Microorganisms.* 15 febbraio 2021;9(2):396.

21. HIV Testing [Internet]. AIDS Institute Clinical Guidelines. [citato 11 marzo 2023]. Disponibile su: <https://www.hivguidelines.org/hiv-testing-acute-infection/hiv-testing/>
22. EACS Guidelines [Internet]. EACSociety. [citato 11 marzo 2023]. Disponibile su: <https://www.eacsociety.org/guidelines/eacs-guidelines/>
23. Tang MW, Shafer RW. HIV-1 Antiretroviral Resistance: Scientific Principles and Clinical Applications. *Drugs*. giugno 2012;72(9):e1–25.
24. Boucher CA, Bobkova MR, Geretti AM, Hung CC, Kaiser R, Marcelin AG, et al. State of the Art in HIV Drug Resistance: Science and Technology Knowledge Gap. *AIDS Rev*.
25. Gelpi M, Afzal S, Fuchs A, Lundgren J, Knudsen AD, Drivsholm N, et al. Prior exposure to thymidine analogs and didanosine is associated with long-lasting alterations in adipose tissue distribution and cardiovascular risk factors. *AIDS*. 15 marzo 2019;33(4):675–83.
26. Montessori V, Press N, Harris M, Akagi L, Montaner JSG. Adverse effects of antiretroviral therapy for HIV infection. *CMAJ*. 20 gennaio 2004;170(2):229–38.
27. Core Concepts - Adverse Effects of Antiretroviral Medications - Antiretroviral Therapy - National HIV Curriculum [Internet]. [citato 11 marzo 2023]. Disponibile su: <https://www.hiv.uw.edu/go/antiretroviral-therapy/adverse-effects/core-concept/all>
28. Gupta SK, Post FA, Arribas JR, Eron JJ, Wohl DA, Clarke AE, et al. Renal safety of tenofovir alafenamide vs. tenofovir disoproxil fumarate: a pooled analysis of 26 clinical trials. *AIDS*. 15 luglio 2019;33(9):1455–65.
29. Lataillade M, Lalezari JP, Kozal M, Aberg JA, Pialoux G, Cahn P, et al. Safety and efficacy of the HIV-1 attachment inhibitor prodrug fostemsavir in heavily treatment-experienced individuals: week 96 results of the phase 3 BRIGHT study. *Lancet HIV*. novembre 2020;7(11):e740–51.
30. Friis-Møller N, Ryom L, Smith C, Weber R, Reiss P, Dabis F, et al. An updated prediction model of the global risk of cardiovascular disease in HIV-positive persons: The Data-collection on Adverse Effects of Anti-HIV Drugs (D:A:D) study. *Eur J Prev Cardiol*. gennaio 2016;23(2):214–23.
31. Saag MS, Gandhi RT, Hoy JF, Landovitz RJ, Thompson MA, Sax PE, et al. Antiretroviral Drugs for Treatment and Prevention of HIV Infection in Adults: 2020 Recommendations of the International Antiviral Society–USA Panel. *JAMA*. 27 ottobre 2020;324(16):1651.

32. Papa N, Cammarota S, Citarella A, Atripaldi L, Bernardi FF, Fogliasecca M, et al. Evolution in Real-World Therapeutic Strategies for HIV Treatment: A Retrospective Study in Southern Italy, 2014–2020. *J Clin Med*. 29 dicembre 2021;11(1):161.
33. Ruiz-Algueró M, Hernando V, Riero M, Blanco Ramos JR, de Zarraga Fernández MA, Galindo P, et al. Temporal Trends and Geographic Variability in the Prescription of Antiretroviral Treatments in People Living with HIV in Spain, 2004–2020. *J Clin Med*. 29 marzo 2022;11(7):1896.
34. Schackman BR, Fleishman JA, Su AE, Berkowitz BK, Moore RD, Walensky RP, et al. The Lifetime Medical Cost Savings From Preventing HIV in the United States. *Med Care*. aprile 2015;53(4):293–301.
35. Linee guida terapia antiretrovirale [Internet]. [citato 11 marzo 2023]. Disponibile su: <https://www.salute.gov.it/portale/hiv/dettaglioContenutiHIV.jsp?lingua=italiano&id=187&area=aids&menu=vuoto>
36. Ang LW, Ng OT, Boudville IC, Leo YS, Wong CS. An observational study of the prevalence of metabolic syndrome in treatment-experienced people living with HIV in Singapore. Fitzgerald ML, curatore. *PLOS ONE*. 2 giugno 2021;16(6):e0252320.
37. Sears S, Buendia JR, Odem S, Qobadi M, Wortley P, Mgbere O, et al. Metabolic Syndrome Among People Living with HIV Receiving Medical Care in Southern United States: Prevalence and Risk Factors. *AIDS Behav*. novembre 2019;23(11):2916–25.
38. Sashindran VK, Singh AR. A study of effect of anti-retroviral therapy regimen on metabolic syndrome in people living with HIV/AIDS: Post hoc analysis from a tertiary care hospital in western India. *Diabetes Metab Syndr Clin Res Rev*. maggio 2021;15(3):655–9.
39. Kauppinen KJ, Aho I, Sutinen J. Switching from tenofovir alafenamide to tenofovir disoproxil fumarate improves lipid profile and protects from weight gain. *AIDS*. 1 agosto 2022;36(10):1337–44.
40. Osiyemi O, De Wit S, Ajana F, Bisshop F, Portilla J, Routy JP, et al. Efficacy and Safety of Switching to Dolutegravir/Lamivudine Versus Continuing a Tenofovir Alafenamide–Based 3- or 4-Drug Regimen for Maintenance of Virologic Suppression in Adults Living With Human Immunodeficiency Virus Type 1: Results Through Week 144 From the Phase 3, Noninferiority TANGO Randomized Trial. *Clin Infect Dis*. 29 settembre 2022;75(6):975–86.

41. Bendala-Estrada AD, Diaz-Almiron M, Busca C, Mican R, Cadiñanos J, Montes ML, et al. Change in metabolic parameters after switching from triple regimens with tenofovir alafenamide to dolutegravir-based dual therapy. Bi-lipid study. *HIV Med.* 16 novembre 2022;hiv.13432.
42. Esber AL, Chang D, Iroezindu M, Bahemana E, Kibuuka H, Owuoth J, et al. Weight gain during the dolutegravir transition in the African Cohort Study. *J Int AIDS Soc* [Internet]. aprile 2022 [citato 11 marzo 2023];25(4). Disponibile su: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jia2.25899>
43. Kalyesubula R, Perazella MA. Nephrotoxicity of HAART. *AIDS Res Treat.* 2011;2011:1–11.
44. Fernandez-Fernandez B, Montoya-Ferrer A, Sanz AB, Sanchez-Niño MD, Izquierdo MC, Poveda J, et al. Tenofovir Nephrotoxicity: 2011 Update. *AIDS Res Treat.* 2011;2011:1–11.
45. Perazella MA. Tenofovir-induced kidney disease: an acquired renal tubular mitochondriopathy. *Kidney Int.* dicembre 2010;78(11):1060–3.
46. Nelson MR, Katlama C, Montaner JS, Cooper DA, Gazzard B, Clotet B, et al. The safety of tenofovir disoproxil fumarate for the treatment of HIV infection in adults: the first 4 years. *AIDS.* giugno 2007;21(10):1273–81.
47. Goicoechea M, Liu S, Best B, Sun S, Jain S, Kemper C, et al. Greater Tenofovir-Associated Renal Function Decline with Protease Inhibitor–Based versus Nonnucleoside Reverse-Transcriptase Inhibitor–Based Therapy. *J Infect Dis.* gennaio 2008;197(1):102–8.
48. Pérez-González A, Suárez-García I, Ocampo A, Poveda E. Two-Drug Regimens for HIV—Current Evidence, Research Gaps and Future Challenges. *Microorganisms.* 14 febbraio 2022;10(2):433.
49. Vos AG, Venter WDF. Cardiovascular toxicity of contemporary antiretroviral therapy. *Curr Opin HIV AIDS.* novembre 2021;16(6):286–91.
50. Shah ASV, Stelzle D, Lee KK, Beck EJ, Alam S, Clifford S, et al. Global Burden of Atherosclerotic Cardiovascular Disease in People Living With HIV: Systematic Review and Meta-Analysis. *Circulation.* 11 settembre 2018;138(11):1100–12.

51. Pramukti I, Lindayani L, Chen YC, Yeh CY, Tai TW, Fetzer S, et al. Bone fracture among people living with HIV: A systematic review and meta-regression of prevalence, incidence, and risk factors. Blank RD, curatore. PLOS ONE. 4 giugno 2020;15(6):e0233501.
52. Chow W, Hardy H, Song J, Connolly N, Wu B. The burden of neuropsychiatric disorders in patients living with HIV-1 treated with antiretroviral therapies—A perspective from US Medicaid data. *Int J STD AIDS*. marzo 2022;33(3):275–81.
53. Landman R, de Truchis P, Assoumou L, Lambert S, Bellet J, Amat K, et al. A 4-days-on and 3-days-off maintenance treatment strategy for adults with HIV-1 (ANRS 170 QUATUOR): a randomised, open-label, multicentre, parallel, non-inferiority trial. *Lancet HIV*. febbraio 2022;9(2):e79–90.
54. Cotte L, Ferry T, Pugliese P, Valantin MA, Allavena C, Cabié A, et al. Effectiveness and tolerance of single tablet versus once daily multiple tablet regimens as first-line antiretroviral therapy - Results from a large french multicenter cohort study. Paraskevis D, curatore. PLOS ONE. 2 febbraio 2017;12(2):e0170661.
55. Di Biagio A, Cozzi-Lepri A, Prinapori R, Angarano G, Gori A, Quirino T, et al. Discontinuation of Initial Antiretroviral Therapy in Clinical Practice: Moving Toward Individualized Therapy. *JAIDS J Acquir Immune Defic Syndr*. 1 marzo 2016;71(3):263–71.
56. Corado KC, Caplan MR, Daar ES. Two-drug regimens for treatment of naïve HIV-1 infection and as maintenance therapy. *Drug Des Devel Ther*. novembre 2018;Volume 12:3731–40.
57. SWORD-1 and SWORD-2 [Internet]. [citato 11 marzo 2023]. Disponibile su: <https://viivexchange.com/en-gb/hiv-medicines/clinical-trials/sword-1-and-2/>
58. van Wyk J, Ajana F, Bisshop F, De Wit S, Osiyemi O, Portilla Sogorb J, et al. Efficacy and Safety of Switching to Dolutegravir/Lamivudine Fixed-Dose 2-Drug Regimen vs Continuing a Tenofovir Alafenamide-Based 3- or 4-Drug Regimen for Maintenance of Virologic Suppression in Adults Living With Human Immunodeficiency Virus Type 1: Phase 3, Randomized, Noninferiority TANGO Study. *Clin Infect Dis*. 5 novembre 2020;71(8):1920–9.
59. Taiwo BO, Marconi VC, Berzins B, Moser CB, Nyaku AN, Fichtenbaum CJ, et al. Dolutegravir Plus Lamivudine Maintains Human Immunodeficiency Virus-1 Suppression

- Through Week 48 in a Pilot Randomized Trial. *Clin Infect Dis.* 17 maggio 2018;66(11):1794–7.
60. HIV Clinical Trials: TANGO Study | ViiV Exchange [Internet]. [citato 11 marzo 2023]. Disponibile su: <https://viivexchange.com/en-gb/hiv-medicines/clinical-trials/tango/>
61. Maggiolo F, Gianotti N, Comi L, Di Filippo E, Fumagalli L, Nozza S, et al. Rilpivirine plus cobicistat-boosted darunavir as a two-drug switch regimen in HIV-infected, virologically suppressed subjects on steady standard three-drug therapy: a randomized, controlled, non-inferiority trial (PROBE 2). *J Antimicrob Chemother.* 1 maggio 2020;75(5):1332–7.
62. Navarro J, Santos JR, Silva A, Burgos J, Falcó V, Ribera E, et al. Effectiveness of Once/Day Dolutegravir Plus Boosted Darunavir as a Switch Strategy in Heavily Treated Patients with Human Immunodeficiency Virus. *Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther.* aprile 2019;39(4):501–7.
63. Vizcarra P, Fontecha M, Monsalvo M, Vivancos MJ, Rojo A, Casado JL. Efficacy and Safety of Dolutegravir plus Boosted-Darunavir Dual Therapy among Highly Treatment-Experienced Patients. *Antivir Ther.* agosto 2019;24(6):467–71.
64. Hocqueloux L, Raffi F, Prazuck T, Bernard L, Sunder S, Esnault JL, et al. Dolutegravir Monotherapy Versus Dolutegravir/Abacavir/Lamivudine for Virologically Suppressed People Living With Chronic Human Immunodeficiency Virus Infection: The Randomized Noninferiority MONotherapy of TiviCAY Trial. *Clin Infect Dis.* 15 ottobre 2019;69(9):1498–505.
65. Paton NI, Stöhr W, Oddershede L, Arenas-Pinto A, Walker S, Sculpher M, et al. The Protease Inhibitor Monotherapy Versus Ongoing Triple Therapy (PIVOT) trial: a randomised controlled trial of a protease inhibitor monotherapy strategy for long-term management of human immunodeficiency virus infection. *Health Technol Assess.* marzo 2016;20(21):1–158.
66. Molina JM, Yazdanpanah Y, Afani Saud A, Bettacchi C, Chahin Anania C, Klopfer SO, et al. Brief Report: Efficacy and Safety of Oral Islatravir Once Daily in Combination With Doravirine Through 96 Weeks for Treatment-Naïve Adults With HIV-1 Infection Receiving Initial Treatment With Islatravir, Doravirine, and Lamivudine. *JAIDS J Acquir Immune Defic Syndr.* 1 settembre 2022;91(1):68–72.

67. Segal-Maurer S, DeJesus E, Stellbrink HJ, Castagna A, Richmond GJ, Sinclair GI, et al. Capsid Inhibition with Lenacapavir in Multidrug-Resistant HIV-1 Infection. *N Engl J Med*. 12 maggio 2022;386(19):1793–803.
68. Youngblood B, Noto A, Porichis F, Akondy RS, Ndhlovu ZM, Austin JW, et al. Cutting Edge: Prolonged Exposure to HIV Reinforces a Poised Epigenetic Program for PD-1 Expression in Virus-Specific CD8 T Cells. *J Immunol*. 15 luglio 2013;191(2):540–4.
69. Chen Z, Julg B. Therapeutic Vaccines for the Treatment of HIV. *Transl Res*. settembre 2020;223:61–75.
70. Bhowmik R, Chaubey B. CRISPR/Cas9: a tool to eradicate HIV-1. *AIDS Res Ther*. 1 dicembre 2022;19(1):58.
71. Mu W, Carrillo MA, Kitchen SG. Engineering CAR T Cells to Target the HIV Reservoir. *Front Cell Infect Microbiol*. 13 agosto 2020;10:410.
72. Mitsuyasu RT, Anton PA, Deeks SG, Scadden DT, Connick E, Downs MT, et al. Prolonged survival and tissue trafficking following adoptive transfer of CD4zeta gene-modified autologous CD4(+) and CD8(+) T cells in human immunodeficiency virus-infected subjects. *Blood*. 1 agosto 2000;96(3):785–93.
73. Lee CT, Chen HP, Lin HH, Ke MY, Wu PF. The influence of low-level viremia on CD4+ cell count in human immunodeficiency virus-infected patients. *J Chin Med Assoc*. dicembre 2022;85(12):1126–30.
74. Pulido F, Ribera E, Lagarde M, Pérez-Valero I, Palacios R, Iribarren JA, et al. Dual Therapy With Darunavir and Ritonavir Plus Lamivudine vs Triple Therapy With Darunavir and Ritonavir Plus Tenofovir Disoproxil Fumarate and Emtricitabine or Abacavir and Lamivudine for Maintenance of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Viral Suppression: Randomized, Open-Label, Noninferiority DUAL-GESIDA 8014-RIS-EST45 Trial. *Clin Infect Dis*. 29 novembre 2017;65(12):2112–8.
75. Di Giambenedetto S, Fabbiani M, Quiros Roldan E, Latini A, D’Ettorre G, Antinori A, et al. Treatment simplification to atazanavir/ritonavir + lamivudine versus maintenance of atazanavir/ritonavir + two NRTIs in virologically suppressed HIV-1-infected patients: 48 week results from a randomized trial (ATLAS-M). *J Antimicrob Chemother*. 15 gennaio 2017;dkw557.

76. Yerly S, Perner 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. dicembre 2000;14(18):2805–12.
77. Sarmati L, Parisi SG, Nicastrì E, d’Ettorre G, Palmisano L, Andreotti M, et al. Association between Cellular Human Immunodeficiency Virus DNA Level and Immunological Parameters in Patients with Undetectable Plasma Viremia Level during Highly Active Antiretroviral Therapy. J Clin Microbiol. dicembre 2005;43(12):6183–5.
78. Andreoni M, Parisi SG, Sarmati L, Nicastrì E, Ercoli L, Mancino G, et al. Cellular proviral HIV-DNA decline and viral isolation in naïve subjects with >5000 copies/ml of HIV-RNA and >500 CD4 cells treated with highly active antiretroviral therapy. 2000;14(1).
79. Moreno S, Perno C, Mallon P, Behrens G, Corbeau P, Routy JP, et al. Two-drug vs . three-drug combinations for HIV-1: Do we have enough data to make the switch? HIV Med. aprile 2019;20:2–12.
80. Laprise C, de Pokomandy A, Baril JG, Dufresne S, Trottier H. Virologic Failure Following Persistent Low-level Viremia in a Cohort of HIV-Positive Patients: Results From 12 Years of Observation. Clin Infect Dis. 15 novembre 2013;57(10):1489–96.
81. Maggiolo F, Callegaro A, Cologni G, Bernardini C, Velenti D, Gregis G, et al. Ultrasensitive Assessment of Residual Low-Level HIV Viremia in HAART-Treated Patients and Risk of Virological Failure. JAIDS J Acquir Immune Defic Syndr. 15 agosto 2012;60(5):473–82.
82. Petrara MR, Cattelan AM, Sasset L, Freguja R, Carmona F, Sanavia S, et al. Impact of monotherapy on HIV-1 reservoir, immune activation, and co-infection with Epstein-Barr virus. Pagano JS, curatore. PLOS ONE. 19 settembre 2017;12(9):e0185128.
83. Mussini C, Lorenzini P, Cozzi-Lepri A, Marchetti G, Rusconi S, Gori A, et al. Switching to dual/monotherapy determines an increase in CD8+ in HIV-infected individuals: an observational cohort study. BMC Med. 29 maggio 2018;16(1):79.
84. Greenberg L, Ryom L, Neesgaard B, Wandeler G, Staub T, Gisinger M, et al. Clinical Outcomes of 2-Drug Regimens vs 3-Drug Regimens in Antiretroviral Treatment-Experienced People Living With Human Immunodeficiency Virus. Clin Infect Dis. 5 ottobre 2021;73(7):e2323–33.

85. Teira R, Diaz-Cuervo H, Aragão F, Marguet S, de la Fuente B, Muñoz MJ, et al. Real world effectiveness of standard of care triple therapy versus two-drug combinations for treatment of people living with HIV. *PloS One*. 2021;16(4):e0249515.
86. Gagliardini R, Ciccullo A, Borghetti A, Maggiolo F, Bartolozzi D, Borghi V, et al. Impact of the M184V Resistance Mutation on Virological Efficacy and Durability of Lamivudine-Based Dual Antiretroviral Regimens as Maintenance Therapy in Individuals With Suppressed HIV-1 RNA: A Cohort Study. *Open Forum Infect Dis*. 1 giugno 2018;5(6):ofy113.
87. Llibre JM, Hung CC, Brinson C, Castelli F, Girard PM, Kahl LP, et al. Efficacy, safety, and tolerability of dolutegravir-rilpivirine for the maintenance of virological suppression in adults with HIV-1: phase 3, randomised, non-inferiority SWORD-1 and SWORD-2 studies. *The Lancet*. marzo 2018;391(10123):839–49.
88. Punekar YS, Parks D, Joshi M, Kaur S, Evitt L, Chounta V, et al. Effectiveness and safety of dolutegravir two-drug regimens in virologically suppressed people living with HIV: a systematic literature review and meta-analysis of real-world evidence. *HIV Med*. luglio 2021;22(6):423–33.
89. Perez-Molina JA, Rubio R, Rivero A, Pasquau J, Suárez-Lozano I, Riera M, et al. Simplification to dual therapy (atazanavir/ritonavir + lamivudine) versus standard triple therapy [atazanavir/ritonavir + two nucleos(t)ides] in virologically stable patients on antiretroviral therapy: 96 week results from an open-label, non-inferiority, randomized clinical trial (SALT study). *J Antimicrob Chemother*. gennaio 2017;72(1):246–53.
90. Spinner CD, Kümmerle T, Schneider J, Cordes C, Heiken H, Stellbrink HJ, et al. Efficacy and Safety of Switching to Dolutegravir With Boosted Darunavir in Virologically Suppressed Adults With HIV-1: A Randomized, Open-Label, Multicenter, Phase 3, Noninferiority Trial: The DUALIS Study. *Open Forum Infect Dis*. 1 settembre 2020;7(9):ofaa356.
91. Fabbiani M, Gagliardini R, Ciccarelli N, Quiros Roldan E, Latini A, d'Ettorre G, et al. Atazanavir/ritonavir with lamivudine as maintenance therapy in virologically suppressed HIV-infected patients: 96 week outcomes of a randomized trial. *J Antimicrob Chemother*. 1 luglio 2018;73(7):1955–64.
92. Mondì A, Fabbiani M, Ciccarelli N, Colafigli M, D'Avino A, Borghetti A, et al. Efficacy and safety of treatment simplification to atazanavir/ritonavir + lamivudine in HIV-infected

patients with virological suppression: 144 week follow-up of the AtLaS pilot study. *J Antimicrob Chemother.* 1 giugno 2015;70(6):1843–9.

93. Maggiolo F, Gulminetti R, Pagnucco L, Digaetano M, Benatti S, Valenti D, et al. Lamivudine/dolutegravir dual therapy in HIV-infected, virologically suppressed patients. *BMC Infect Dis.* dicembre 2017;17(1):215.

## **RINGRAZIAMENTI**