

I rischi associati al fallimento virologico in corso di monoterapia con IP/r

La filosofia della monoterapia con inibitore delle proteasi potenziato con ritonavir (IP/r) come strategia di mantenimento nell'infezione cronica da HIV poggia sostanzialmente sul fatto che il fallimento virologico in corso di monoterapia non si associa a maggiore rischio di insorgenza di mutazioni di resistenza agli IP, rispetto alla terapia standard. Questo consente di mantenere la possibilità di risopprimere la viremia plasmatica con la sola reintroduzione del *backbone* nucleosidico/nucleotidico precedentemente utilizzato.

Infatti, gli studi in tal senso hanno dimostrato che:

1. I pazienti falliti in monoterapia non hanno presentato maggior rischio di mutazioni di resistenza primaria agli IP rispetto al gruppo in triplice terapia.

Gli studi **OK04** (205 pazienti in totale randomizzati a LOP/r monoterapia *versus* 2NRTI+LOP/r), **MONOI** (225 pazienti in totale randomizzati a DRV/r monoterapia *versus* 2NRTI+DRV/r) e **MONET** (256 pazienti in totale randomizzati a DRV/r monoterapia *versus* 2NRTI+DRV/r) sono concordi nel confermare il non aumentato rischio di sviluppare mutazioni primarie durante la monoterapia con IP/r.

In particolare:

- Lo studio OK04,¹ a 96 settimane di *follow-up* ed utilizzando il genotipo standard di popolazione, ha evidenziato nei 20 pazienti con viremia >500 copie/ml (16 in mono e 4 in triplice) la comparsa di mutazioni primarie per LOP in due soggetti in triplice terapia (uno con le mutazioni I54V/V82A ed un secondo per il quale probabilmente si trattava di "superinfezione" con ceppo virale diverso) ed in due soggetti in LOP/r monoterapia (uno con la mutazione M46I ed uno con le mutazioni M46I/I54V/V82A).

L'analisi virologica più sofisticata² ha dato risultati simili. Infatti, la tecnica del "single genome sequencing assay" è stata condotta allo scopo di valutare l'insorgenza di varianti di resistenza a bassa frequenza (5% della popolazione virale) durante il

fallimento virologico. Tale analisi applicata ai 15 pazienti dello studio OK04 (11 in monoterapia vs 4 in triplice) con fallimento virologico (entro la 48 settimana) sopra le 500 copie/ml (range: 524-72.300) ha rilevato, oltre alle mutazioni primarie per LOP identificate dal genotipo standard, la presenza di mutazioni primarie per LOP in altri 5 soggetti [3 nel braccio triplice (tutti con M46I) e 2 nel braccio mono (uno con M46I/L e uno con V82A)]. Nel complesso, 3 su 4 pazienti con fallimento virologico nel braccio triplice hanno mostrato mutazioni maggiori nel gene della proteasi rispetto a 3 su 11 pazienti nel braccio in mono con LOP/r (p=0,10).

- Lo studio MONOI,³ a 96 settimane di *follow-up*, ha mostrato nei 9/225 pazienti (5 in mono e 4 in triplice) con *failure* virologico (viremia >400 copie/ml, confermata) l'assenza di nuove mutazioni primarie di resistenza per DRV, secondo il genotipo standard. *In realtà, un paziente in monoterapia ha presentato al fallimento occorso nel primo anno di studio la mutazione VIII (che però risultava già presente nel campione ematico congelato di 7 anni prima).* Inoltre, in nessuno dei 47 pazienti con viremia >50 copie (confermata) è stata rilevata la selezione di mutazioni di resistenza primarie per DRV.⁷
- Lo studio MONET,⁴⁻⁶ a 144 settimane di *follow-up*, ha confermato che nei 54 pazienti (31 nel braccio mono e 23 nel braccio triplice), con viremia >50 copie/ml (anche in singola determinazione e con genotipo standard), un solo paziente per braccio ha sviluppato mutazioni genotipiche per gli IP. Nel braccio in monoterapia un soggetto ha presentato alla settimana 12 una mutazione per DRV (L33F) durante un singolo incremento virale a 63 copie (incremento non confermato, quindi non un *failure* virologico secondo il protocollo). La viremia di questo paziente è rimasta soppressa per tutta la durata dello studio restando sempre nel braccio Mono. Per il braccio Triplice, un solo paziente ha presentato una mutazione per IP (L90M) insieme ad una mutazione per NRTI (M184V) nel corso di incrementi viremici di 78 e

50 copie/ml rispettivamente (in due controlli consecutivi). Questo paziente era stato pretrattato con PI e come tale era un “*protocol violator*”, ma è stato mantenuto nel braccio di randomizzazione con efficacia virologica, senza modifica del regime, fino alla settimana 96.

2. I pazienti falliti in monoterapia non hanno presentato maggior rischio di mutazioni secondarie e mutazioni fenotipiche agli IP rispetto al gruppo in triplice terapia.

Essendo la viremia al baseline inferiore alle 50 copie/ml in quasi tutti i pazienti, è difficile dire se le mutazioni minori (secondo elenco IAS USA) riscontrate nei pazienti viremici (specie nel gruppo in monoterapia) siano emergenti o pre-esistenti allo *shift*. Tuttavia si possono fare le seguenti considerazioni:

- Nello studio OK04,² l’analisi sopra citata attraverso il “*single genome sequencing assay*” (riferita ai 15 pazienti in fallimento virologico entro la 48^a settimana) ha rilevato mutazioni di resistenza “minori” in tutti i campioni esaminati, senza significativa differenza nella mediana di mutazioni fra i bracci mono e triplice (3,0 *versus* 3,5, $p=0,23$).
- Nello studio MONOI,⁷ tra i 9 fallimenti virologici registrati (5 in mono e 4 in triplice), in un solo paziente sono state identificate varianti di resistenza minori con mutazioni per DRV in posizione 32, 47 e 50.
- Nello studio MONET,^{5,6} la proporzione di pazienti con mutazioni minori per gli IP era simile fra i gruppi mono e triplice terapia. In particolare, in tre pazienti in monoterapia con viremia positiva al baseline (i.e. viremia: 278, 144 e 2500 copie/ml) e con ripetuti episodi di viremia sopra le 50 copie/ml nel corso dello studio, non si è registrata alcuna evoluzione delle resistenze minori per gli IP.

Nello studio MONET,⁶ dopo un *follow-up* di 380 pazienti/anno, nessun paziente ha sviluppato resistenza fenotipica a DRV.

3. I pazienti falliti in monoterapia non hanno presentato maggior rischio di mutazioni nel gene gag e nella regione TFP-p6 rispetto al gruppo in triplice terapia.

L’analisi sopra citata² del “*single genome sequencing assay*” è stata applicata anche al gene gag di HIV-1 per i 15 pazienti dello studio OK04 in fallimento virologico (11 in monoterapia *versus* 4 in triplice). L’analisi ha rivelato che il fallimento virologico non era correlato alla insorgenza più frequente di mutazione nel gene gag associate a resistenza agli IP fra i bracci mono e triplice [sia nei *cleavage sites* (mediana 3,0 *versus* 2,5; $p=0,83$), nei *non-cleavage sites* (21 *versus* 16,5; $p=0,71$) e nei *transframe protein-p6 pol region cleavage sites* (4,0 *versus* 3,0; $p=0,6$), rispettivamente]. Tuttavia, va sottolineato che il significato clinico di queste mutazioni non è noto e che l’emergenza delle stesse durante il fallimento virologico non può essere confermata, in assenza del dato al baseline.

Anche nello studio MONOI,⁷ l’analisi della regione Gag eseguita nei 9 pazienti con *failure* virologico, non ha mostrato alcuna selezione di varianti minori.

4. I pazienti falliti in monoterapia hanno ottenuto la soppressione della viremia a <50 copie/ml dopo la reintroduzione del backbone nucleotidico/nucleosidico che era in corso prima dello switch a monoterapia.

- Nello studio OK04,¹ dei 12 pazienti (12%) in monoterapia che hanno richiesto la reinduzione con il *backbone* nucleosidico/nucleotidico (6 nel primo e 6 nel secondo anno), 10 (83%) hanno risoppresso la viremia (<50 copie/ml), mentre due hanno avuto un successivo *rebound* virologico dopo la reinduzione.
- Nello studio MONOI,³ nei 5 pazienti in monoterapia che hanno reinserito il *backbone*, la viremia è risultata inferiore alle 50 copie/ml.
- Nello studio MONET,⁴ nei 6/7 pazienti in monoterapia che hanno reinserito il *backbone*, la viremia è risultata inferiore alle 50 copie/ml.

5. la risposta immunologica (intesa come conta assoluta dei linfociti CD4) è risultata sovrapponibile durante il follow-up nei due bracci di terapia a confronto.

- Lo studio OK04,¹ l'incremento medio della conta dei CD4 a 96 settimane era di +71 e +41 cells/mmc per il braccio mono e triplice, rispettivamente (differenza non significativa).
- Nello studio MONOI³ l'incremento mediano della conta dei CD4 a 96 settimane era di +70 e +39 cells/mmc per il braccio mono e triplice, rispettivamente (p=0,33).
- Nello studio MONET⁴ l'incremento medio della conta dei linfociti CD4+ a 144 settimane era di +95 e +99 cells/mmc per il braccio mono e triplice, rispettivamente.

Tabella comparativa degli studi randomizzati di terapia mono versus triplice.

Studio (Pazienti N) Follow-up	Mutazioni di resistenza (con genotipo standard di popolazione) nel braccio mono versus triplice			Risposta immunologica	Efficacia della reinduzione
	Mutazioni primarie per IP	Mutazioni secondarie per IP	Mutazioni nel gene gag	Incremento medio dei CD4	%
OK04 (100 vs 98) 96 settimane	2 vs 2	3,0 vs 3,5 (in 15 pazienti)	Nessuna differenza	+71 vs +41 [§]	83 (10/12)
MONOI (112 vs 113) 96 settimane	1° vs 0	1/9 pazienti	Nessuna differenza nelle varianti minori di gag	+70 vs +39 [§]	100 (5/5)
MONET (127 vs 126) 144 settimane	1 vs 1(*)	Nessuna differenza tra bracci	Non valutato	+95 vs +99	85 (6/7)

[§] Non statisticamente significativo; °mutazione V111, già presente 7 anni prima; *in questo paziente vi era anche anche la mutazione M184V.

Bibliografía

1. **Arribas JR, Delgado R, Arranz A, et al.** Lopinavir-ritonavir monotherapy versus lopinavir-ritonavir and 2 nucleosides for maintenance therapy of HIV: 96-week analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009; 51: 147-52.
2. **McKinnon JE, Delgado R, Pulido F, Shao W, Arribas JR, Mellors JW.** Single genome sequencing of HIV-1 gag and protease resistance mutations at virologic failure during the OKD4 trial of simplified versus standard maintenance therapy. *Antivir Ther.* 2011; 16: 725-32.
3. **Valantin MA, Lambert-Niclot S, Flandre P, et al.** Long-term efficacy of darunavir/ritonavir monotherapy in patients with HIV-1 viral suppression: week 96 results from the MONOI ANRS 136 study. *J Antimicrob Chemother.* 2012; 67: 691-5.
4. **Arribas J, Clumeck N, Nelson M, Hill A, van Delft Y, Moecklinghoff C.** The MONET trial: week 144 analysis of the efficacy of darunavir/ritonavir (DRV/r) monotherapy versus DRV/r plus two nucleoside reverse transcriptase inhibitors, for patients with viral load <50 HIV-1 RNA copies/mL at baseline. *HIV Med.* 2012; March.
5. **Pulido F, Arribas JR, Hill A, Van Delft Y, Moecklinghoff C.** Analysis of drug resistance during HIV RNA viraemia in the MONET trial of darunavir/ritonavir monotherapy. *Antivir Ther.* 2011; 16: 59-65.
6. **Pulido F, Arribas J, Hill A, Moecklinghoff C.** No evidence for evolution of genotypic resistance after three years of treatment with darunavir/ritonavir, with or without nucleoside analogues. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2012, April.
7. **Lambert-Niclot S, Flandre P, Valantin MA et al.** Resistant minority species are rarely observed in patients on darunavir/ritonavir monotherapy. *J Antimicrob Chemother.* 2012, March.