

UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia

TERAPIE ANTIRETROVIRALI BASATE SU INIBITORI DELLE PROTEASI O INIBITORI DELL'INTEGRASI: CONFRONTO FRA ALTERAZIONI DEL METABOLISMO

Relatore: Chiar.mo
Prof. Andrea Giacometti

Tesi di Laurea di:
Matteo Malandrino

Correlatore: Chiar.mo
Prof. Oscar Cirioni

A.A. 2019/2020

INDICE

INTRODUZIONE 1

Capitolo 1: INFEZIONE DA HIV 3

1.1 L'origine del virus e la sua scoperta 3

1.2 Epidemiologia in Italia e nel mondo 5

1.3 Caratteristiche biologiche dell'HIV: classificazione, struttura e genoma 10

1.4 Ciclo replicativo 13

1.5 Modalità di trasmissione 16

1.6 Storia naturale dell'infezione 18

Capitolo 2: TERAPIA ART 22

2.1 I primi farmaci e l'introduzione della HAART 22

2.2 Le differenti classi di farmaci antiretrovirali 23

2.2.1 Inibitori nucleosidici e nucleotidici della trascrittasi inversa 23

ZIDOVUDINA 24

DIDANOSINA 25

ZALCITABINA 26

STAVUDINA 26

LAMIVUDINA 26

EMTRICITABINA 27

ABACAVIR 28

TENOFOVIR 28

2.2.2 Inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa 29

NEVIRAPINA ED EFAVIRENZ 30

DELAVIRDINA 30

ETRAVIRINA.....30
RIPILVIRINA.....31
DORAVIRINA.....31
2.2.3 Inibitori delle proteasi.....31
SAQUINAVIR.....32
RITONAVIR.....32
INDINAVIR.....33
NELFINAVIR ED AMPRENAVIR.....34
FOSAMPRENAVIR.....34
LOPINAVIR/RITONAVIR.....34
ATAZANAVIR.....35
TIPRANAVIR.....35
DARUNAVIR.....36
2.2.4 Inibitori delle integrasi.....36
RALTEGRAVIR.....36
DOLUTEGRAVIR.....37
ELVITEGAVIR.....37
BICTEGRAVIR.....37
2.2.5 Inibitori di ingresso.....38
ENFUVIRTIDE.....38
MARAVIROC.....38
2.2.6 Booster.....39
RITONAVIR.....39
COBICISTAT.....39
2.3 L'approccio farmacologico nel paziente HIV+.....40

Capitolo 3: ALTERAZIONI DEL PROFILO METABOLICO NEL PAZIENTE SIEROPOSITIVO 43
3.1 Eziopatogenesi delle alterazioni metaboliche 44
3.1.1. L'invecchiamento dei pazienti HIV positivi 45
3.1.2 Processi infiammatori 46
3.1.3 Tossicità dei farmaci antiretrovirali 47
3.2 Le complicanze metaboliche 49
3.2.1 Alterazioni del metabolismo lipidico 49
3.2.2 Alterazioni del metabolismo glucidico 50
3.2.3 Funzionalità epatica 51
3.2.4 Funzionalità renale 53
3.3 Trattamento delle alterazioni metaboliche 54
3.3.1 Intervento sullo stile di vita 54
3.3.2 Terapia farmacologica 55
3.3.3 Modificazione della terapia antiretrovirale 56
Capitolo 4: DESCRIZIONE DELLO STUDIO 58
4.1 Obiettivi dello studio 58
4.2 Pazienti e metodi 58
4.3 Risultati dello studio 64
4.3.1 Monitoraggio viro-immunologico 64
4.3.2 Colesterolo totale 68
4.3.3 Colesterolo LDL 70
4.3.4 Colesterolo HDL 72
4.3.5 Trigliceridi 74
4.3.6 Glicemia 76

4.3.7 Transaminasi GOT/AST e GPT/ALT 77

4.3.8 Bilirubina 79

4.3.9 Creatinina 81

4.3.10 Fibrinogeno 83

4.3.11 Peso corporeo 84

4.3.12 ACC/AHA score 85

Capitolo 5: DISCUSSIONE E CONCLUSIONI 87

BIBLIOGRAFIA 89

RINGRAZIAMENTI 97

INTRODUZIONE

Sin dai primi anni '80 sono stati effettuati notevoli progressi nel trattamento dei pazienti con infezione da HIV. Negli anni successivi alla scoperta di questo virus, infatti, numerosi studi hanno permesso di aumentare la disponibilità di farmaci antiretrovirali da utilizzare per la terapia dei pazienti sieropositivi, inoltre si ha a disposizione un sempre maggior numero di strategie impiegate per la prevenzione e il trattamento delle infezioni e comorbidità HIV-associate (Yuan et al., 2018). In assenza di trattamento l'aspettativa di vita dei pazienti risulta estremamente ridotta (sopravvivenza media stimata di circa undici anni), mentre oggi la terapia HAART (Highly Active AntiRetroviral Therapy) ha permesso di aumentare la sopravvivenza, migliorare la qualità di vita e prevenire l'infezione da HIV. Questa terapia, nonostante la sua indubbia efficacia nel ridurre la morbilità e la mortalità nel paziente HIV positivo, presenta comunemente degli effetti collaterali che possono influenzare la prognosi (Esser et al., 2007), tenendo comunque presente che i farmaci devono essere continuati per tutta la vita, vista l'attuale impossibilità di eradicare definitivamente l'infezione. In particolare la classe di farmaci degli inibitori delle proteasi è associata ad alterazioni del metabolismo (Moyle, 2007) che comprendono:

- Aumento dei livelli di colesterolo totale, low-density lipoprotein (LDL) e very-low-density lipoprotein (VLDL)
- Riduzione high-density lipoprotein (HDL)
- Aumento dei trigliceridi
- Resistenza insulinica con iperglicemia
- Accumulo di lipidi nel fegato, pancreas, muscolo scheletrico e a livello viscerale, che determinano danno d'organo e contribuiscono ulteriormente all'insulino-resistenza

Numerosi studi clinici hanno evidenziato un ridotto impatto sul profilo metabolico da parte degli inibitori delle integrasi (INI) rispetto agli inibitori delle proteasi (PI)

(Esser et al., 2007) (Eron et al., 2010) (Carr et al.) (Gatell et al.), sebbene nella pratica clinica diversi fattori possono influenzare il profilo metabolico e il cambio della terapia non sempre è determinante. Scopo di questo studio prospettico multicentrico (3 ospedali terziari nelle Marche: Ancona, Pesaro e Fermo) è andare a valutare se vi può essere un beneficio dal punto di vista del profilo metabolico in seguito ad uno switch da un regime terapeutico PI-based ad uno INI-based, sia in duplice che in triplice terapia, a parità di efficacia clinica nel controllo dell'infezione. Si è posta particolare attenzione al profilo lipidico di questi pazienti, in quanto maggiormente correlato al rischio cardiovascolare. I pazienti sono stati seguiti nel tempo con una valutazione del loro profilo metabolico al tempo 0 (T0) e successivamente rivalutati a 3, 6, 12 e 24 mesi per poter così analizzare eventuali modificazioni durante questo periodo. I dati analizzati comprendono: HIV-RNA, linfociti CD4+, CD4%, rapporto CD4+/CD8+, profilo lipidico (colesterolo totale, HDL, LDL, trigliceridi), glucosio, indici di funzionalità epatica (GOT, GPT, bilirubina totale), fibrinogeno, creatinina, peso e uno score di rischio cardiovascolare, l'ACC/AHA score.

Capitolo 1: INFEZIONE DA HIV

L' HIV (Human Immunodeficiency Virus) è un virus che colpisce i linfociti T CD4+, indebolendo il sistema immunitario del soggetto infettato e rendendolo così maggiormente suscettibile ad infezioni opportunistiche, come infezioni da Pneumocystis carinii o da Candida albicans, e tumori anche rari come il sarcoma di Kaposi (Prusiner, 2012). Si trasmette tramite il contatto di determinati fluidi biologici di una persona portatrice di HIV, soprattutto tramite rapporti sessuali non protetti o con la condivisione di siringhe in tossicodipendenti. Se non trattata, l'infezione da HIV può portare ad una condizione di AIDS (Acquired ImmunoDeficiency Syndrome), che rappresenta l'ultimo stadio dell'infezione da HIV, che si verifica quando la conta dei CD4+ scende al di sotto dei 200 cellule/mm^3 o quando una persona sviluppa una o più infezioni opportunistiche a prescindere dalla conta dei CD4+.

1.1 L'origine del virus e la sua scoperta

Grazie a studi di tipo retrospettivo si è potuto constatare che l'HIV origina da trasmissioni multiple di tipo zoonotico (tipo di infezioni trasmesse dagli animali all'uomo) del *simian immunodeficiency virus* (SIV) dai primati all'uomo, che si sono verificate intorno al 1920 nell'Africa centrale e occidentale. La trasmissione inter-specie probabilmente si è verificata in seguito a processi di caccia e macellazione delle scimmie, nonché per il loro utilizzo quali animali domestici in alcune zone dell'Africa. Più di 40 differenti primati posso sviluppare una infezione da SIV ed ogni specie è portatrice di un virus specie-specifico.

Trasmissioni zoonotiche indipendenti dai primati all'essere umano hanno generato diversi ceppi di HIV: HIV di tipo 1 (HIV-1) gruppi M, N, O e P e l'HIV di tipo 2 (HIV 2) gruppi A-H. Il Gruppo M è quello responsabile della pandemia globale che affligge il mondo fin dai primi anni 80', mentre il gruppo O ha causato qualche decina di migliaia di casi in Africa centro-occidentale e i gruppi N e P sono stati

trovati in un numero limitato di soggetti in Camerun. I gruppi M e N dell'HIV-1 originano direttamente, ma in modo indipendente, da *SIVcpz* trovato in scimpanzè *Pan troglodytes troglodytes* nell'africa centro-occidentale. *SIVcpz* a sua volta origina da ricombinazioni tra *SIVrcm* del cercocebo dal collare (*Cercocebus torquatus*) e *SIVgns* del cercopiteco nasobianco maggiore (*Cercopithecus nictitans*), con gli scimpanzè come ospiti intermedi. Mentre il gruppo N è rimasto isolato in Camerun, con un numero limitato di individui infettato, il gruppo M si è diffuso verso sud tramite il fiume Congo, nell'attuale Kinshasa (ex Leopoldville, Zaire) nella Repubblica democratica del Congo, dove l'epidemia da HIV-1 ha probabilmente avuto origine (Hemelaar, 2012). Il virus si è poi diffuso a Brazzaville e ad altre città del Congo belga nella prima metà degli anni 30' e successivamente nel resto del mondo (Hogan et al., 2016).

L' infezione, fino a quel momento rimasta indiagnosticata, giunge all'attenzione della comunità scientifica internazionale nel 1981, quando, il 5 giugno, il CDC americano (Center for Disease Control) pubblica nel suo resoconto settimanale l'insorgenza di una rara infezione polmonare, la polmonite da Pneumocystis carinii (PCP), in cinque giovani uomini omosessuali precedentemente in salute a Los Angeles (Gottlieb et al., 1981) (Masur et al., 1981), rappresentando di fatto il primo rapporto ufficiale di casi di quella che sarà poi nota come epidemia da AIDS. Contemporaneamente un dermatologo di New York, il Dr. Alvin Friedman-Kien, riporta al CDC americano l'aumento di casi di un raro e inusuale tumore aggressivo, il Sarcoma di Kaposi, tra giovani uomini omosessuali a New York e in California (Hymes et al., 1981). Entrambe queste patologie interessano esclusivamente pazienti gravemente immunocompromessi e il fatto che tutti questi pazienti fossero omosessuali, suggerì la presenza di una connessione con lo stile di vita di questi pazienti o di una patologia acquisita per trasmissione sessuale (Gottlieb, 2006). Fu solo nel 1983 che Luc Montagnier e i suoi colleghi dell'Istituto Pasteur di Parigi scoprirono un nuovo retrovirus che colpiva l'essere umano, ma furono Robert Gallo e i suoi colleghi del National Institutes of Health che nel 1984 trovarono una connessione fra questo nuovo virus e l'AIDS. Infine, nel maggio del

1986, il Comitato Internazionale per la Tassonomia dei Virus chiamò ufficialmente questo nuovo retrovirus HIV (Greene, 2007).

1.2 Epidemiologia in Italia e nel mondo

L'Organizzazione Mondiale della Sanità stima che dall'inizio dell'epidemia da HIV, circa 76 milioni di persone siano state infettate e circa 33 milioni siano andate incontro a decesso. I dati più recenti, aggiornati a fine del 2019, ci informano che sono circa 38 milioni [31.6-44.5 milioni] le persone con una infezione da HIV a livello globale, con 1.7 milioni [1.2-2.2 milioni] casi di nuove infezioni e circa 690.000 [500.000-970.000] casi di decesso nel 2019. La prevalenza è simile fra i due sessi con circa 19.2 [16.4-22.2] milioni di donne colpite contro i 17 [13.8-20.4] milioni di uomini. La maggior parte dei casi interessa la popolazione adulta con 36.2 milioni [30.2-42.5] contro i 1.8 milioni [1.3-2.2] della popolazione pediatrica (intesa di età < 15 anni).

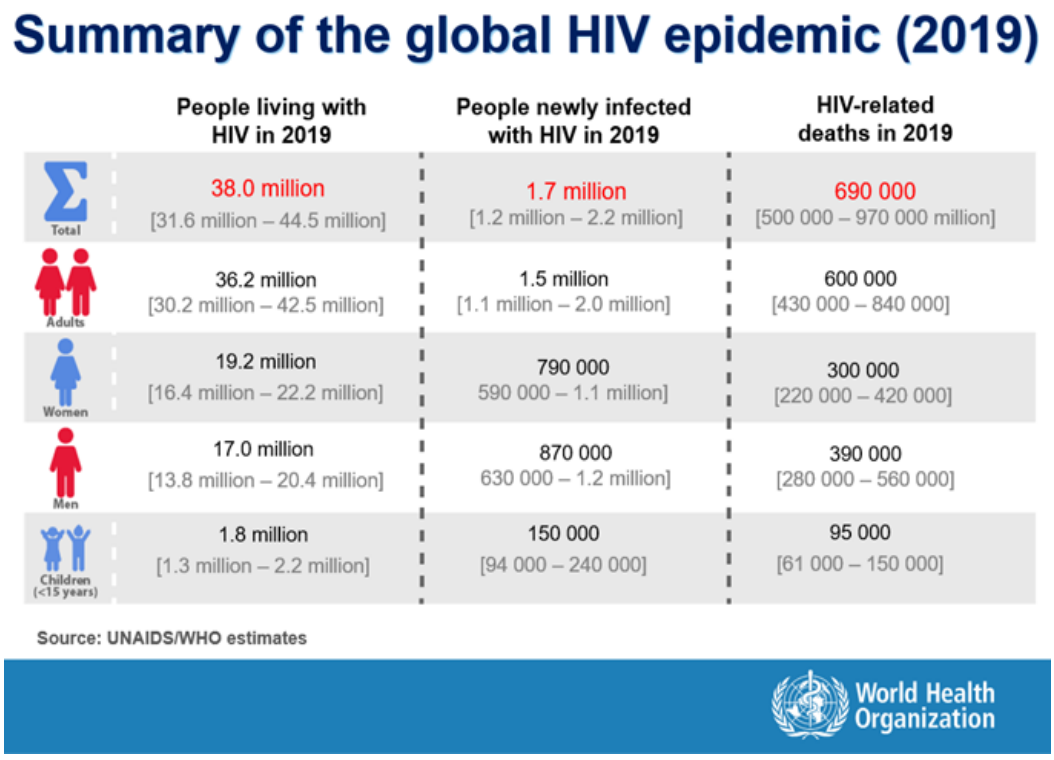


Figura 1. Sommario dei dati dell'epidemia a livello mondiale nel 2019 (Fonte WHO)

Andando ad analizzare la distribuzione dell'infezione a livello globale si può osservare come ci sia una notevole variabilità fra le diverse regioni del globo: in tutto il mondo circa lo 0.7% [0.6-0.9%] degli adulti di età compresa fra i 15 e i 49 è affetto da HIV, mentre il continente africano è molto più severamente colpito, con circa 1 adulto ogni 25 (3.7%) infettato, rendendo di fatto l'Africa il continente più severamente colpito con oltre il 70% dei sieropositivi mondiali che risiedono in questa zona.

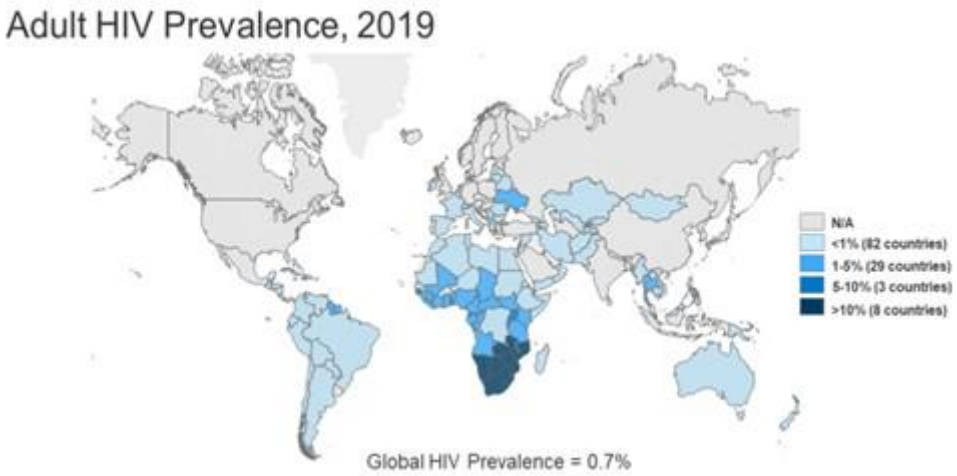


Figura 2. Prevalenza dell'infezione nella popolazione adulta nel 2019 (Fonte UNAIDS)

In base ai dati di UNAIDS (The Joint United Nations Programme on HIV/ AIDS) negli ultimi anni si è andati incontro ad una riduzione dei nuovi casi di HIV, nonché della mortalità AIDS-correlata a livello globale. Questo è in buona parte dovuto al sempre maggior numero di pazienti che vengono trattati con la terapia farmacologica: alla fine del 2019 25.4 milioni [24.5-25.6 milioni] di pazienti, corrispondenti al 67% dei sieropositivi, facevano terapia antiretrovirale contro i 6.4 milioni [5.9-6.4 milioni] del 2009. I nuovi casi si sono ridotti di circa il 40% a partire dal picco del 1998: si è infatti passati dai 2.8 milioni [2.0-3.7 milioni] del 1998 agli 1.7 della fine del 2019. Similarmente si sono ridotti i decessi: si è passati dal picco del 2004 con 1.7 milioni [1.2-2.4 milioni] di vittime alle 690.000 del 2019, con una riduzione del 60%.

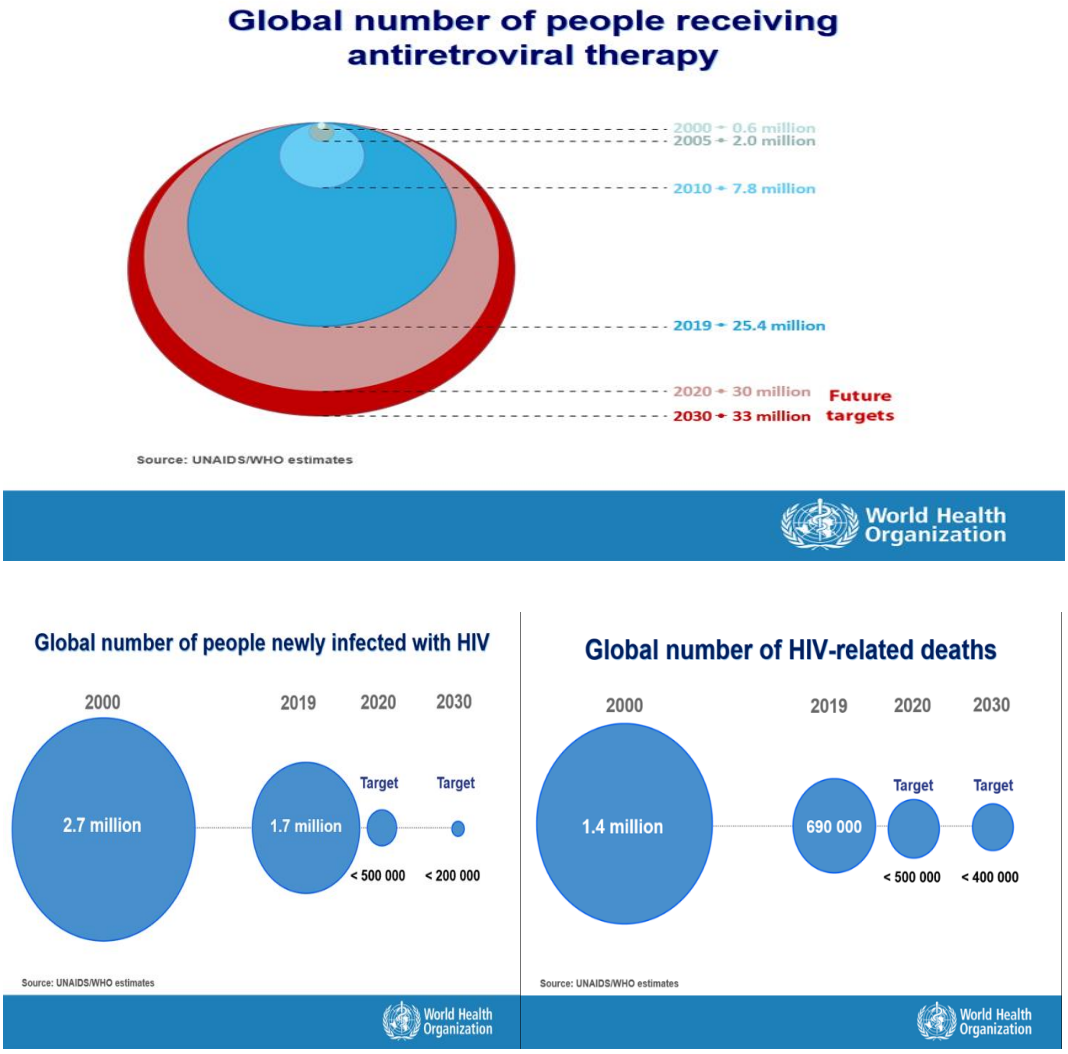


Figura 3. Obiettivi per il futuro fissati nel 2019: persone che riceveranno il trattamento, nuovi casi di infezione e decessi HIV-correlati previsti per il 2020 e il 2030 (Fonte UNAIDS/WHO)

Gli obiettivi a livello mondiale di UNAIDS e della WHO sono quelli di aumentare progressivamente il numero di persone trattate, portandole dai 25 milioni attuali a 30 milioni nel 2020 e a 33 milioni nel 2020, ridurre le nuove infezioni, dalle 1.7 milioni del 2019 a meno delle 200.000 entro il 2030, e ridurre il numero dei decessi, dai 690.000 attuali a meno di 400.000 entro il 2030.

In Italia il Registro Nazionale AIDS è attivo dal 1982, mentre il Sistema di sorveglianza delle nuove diagnosi di infezione da HIV è stato istituito con Decreto Ministeriale nel 2008 e dal 2012 tutte le regioni italiane hanno attivato un sistema di sorveglianza che attualmente ha una copertura nazionale. Le segnalazioni vengono continuamente inviate dalle regioni e dai centri segnalatori al Centro

Operativo AIDS (COA) dell'Istituto Superiore di Sanità. Il COA ogni anno pubblica un fascicolo con gli aggiornamenti di questi due flussi di sorveglianza. Secondo il notiziario più recente (del 31 dicembre 2018), in Italia nel 2018 si sono registrati 2847 nuovi casi di infezione da HIV, pari a 4,7 casi/100.000 residenti, incidenza leggermente minore all'incidenza media dei paesi dell'Unione Europea (5,1 casi/100.00 residenti) e le regioni più colpite sono la Lombardia (617 nuovi casi), il Lazio (463) e l'Emilia-Romagna (245).

	2018				
Regione	Segnalati	% sul totale	Residenti	% sul totale	Incidenza per 100.000 residenti
Piemonte	187	6,6	195	6,8	4,5
Valle d'Aosta	3	0,1	4	0,1	3,2
Liguria	91	3,2	86	3,0	5,5
Lombardia	617	21,7	544	19,1	5,4
Provincia Autonoma di Trento	20	0,7	21	0,7	3,9
Provincia Autonoma di Bolzano	4	0,1	5	0,2	0,9
Veneto	162	5,7	166	5,8	3,4
Friuli Venezia Giulia	24	0,9	23	0,8	1,9
Emilia-Romagna	245	8,6	225	7,9	5,1
Toscana	211	7,4	208	7,3	5,6
Umbria	38	1,3	36	1,3	4,1
Marche	60	2,1	70	2,5	4,6
Lazio	463	16,3	398	14,0	6,7
Abruzzo	58	2,0	61	2,2	4,6
Molise	13	0,5	11	0,4	3,6
Campania	232	8,2	227	8,0	3,9
Puglia	149	5,2	159	5,6	3,9
Basilicata	7	0,2	6	0,2	1,1
Calabria	9	0,3	22	0,8	1,1
Sicilia	205	7,2	217	7,6	4,3
Sardegna	49	1,7	52	1,8	3,2
Residenza estera			23	0,8	
Residenza non riportata			88	3,1	
Totale	2.847	100,0	2.847	100,0	4,7

Figura 4. Nuovi casi di HIV in Italia nel 2018, divisi per regione di segnalazione e regione di residenza (Fonte ISS)

I casi più numerosi sono dovuti a trasmissione sessuale eterosessuale (41%, di cui 23% maschi e 18% femmine), seguiti da casi relativi a MSM (maschi che hanno rapporti sessuali con altri maschi) (39%) ed infine le persone che fanno uso di droghe endovena, che rappresentano il 4% di tutte le segnalazioni.

Dall'inizio dell'epidemia nel 1982, in Italia il Registro Nazionale AIDS ha segnalato 70.567 casi di AIDS al 31 dicembre 2018 con oltre 45.000 deceduti. Nel 2018 i nuovi casi di AIDS sono 661 con una incidenza di 1,1 casi/100.000 residenti.

Anni	Casi diagnosticati	Casi corretti	Morti per anno di decesso
1982	1	1	0
1983	8	8	2
1984	37	37	16
1985	198	198	89
1986	459	459	268
1987	1.030	1.030	563
1988	1.775	1.775	857
1989	2.483	2.483	1.407
1990	3.137	3.137	1.947
1991	3.830	3.830	2.621
1992	4.259	4.259	3.279
1993	4.804	4.804	3.670
1994	5.508	5.508	4.335
1995	5.653	5.653	4.582
1996	5.054	5.054	4.200
1997	3.385	3.385	2.144
1998	2.445	2.445	1.071
1999	2.144	2.144	1.064
2000	1.958	1.958	1.045
2001	1.823	1.823	1.033
2002	1.772	1.772	1.000
2003	1.734	1.734	1.031
2004	1.641	1.641	919
2005	1.531	1.531	862
2006	1.456	1.456	812
2007	1.408	1.408	819
2008	1.342	1.342	754
2009	1.206	1.206	715
2010	1.149	1.149	645
2011	1.057	1.057	644
2012	1.074	1.074	636
2013	1.077	1.077	653
2014	929	929	572
2015	871	872	560
2016	871	877	532
2017	797	821	*
2018	661	759	*
Totale	70.567	70.697	45.347

(*) I morti per AIDS per gli anni 2017 e 2018 non sono stati riportati perché i dati del Registro di Mortalità dell'ISTAT sono disponibili solo fino al 2016

Figura 5. Numero dei casi di AIDS per anno di diagnosi, dei casi corretti per ritardo di notifica e dei decessi aggiornato a dicembre 2018 (fonte ISS)

1.3 Caratteristiche biologiche dell'HIV: classificazione, struttura e genoma

L'HIV è un virus appartenente alla famiglia dei Retrovirus, sottofamiglia Orthoretrovirinae, genere Lentivirus. La caratteristica distintiva dei virus appartenenti alla famiglia dei Retrovirus è quella di possedere un enzima a codifica virale, la trascrittasi inversa (RT), che è capace di retrotrascrivere il genoma virale a RNA in DNA: la trascrizione inversa rappresenta infatti uno step fondamentale nella replicazione di questi virus (Cimarelli & Darlix, 2014).

Il virus dell'immunodeficienza umana include due distinti ceppi di virus: HIV-1, responsabile dell'attuale pandemia globale e diffuso in tutto il mondo, e HIV-2, limitato ad alcune aree dell'Africa, che differiscono sia per quanto riguarda l'origine, sia per la sequenza genica (Weiss, 2000). Ad ogni modo, entrambi i virus possono portare ad una condizione di AIDS con un simile spettro di sintomi, anche se HIV-2 sembra essere meno virulento e necessiti di più tempo per progredire in AIDS (Marlink et al., 1994).

Grazie a studi di microscopia elettronica sappiamo che le particelle virali mature hanno una forma icosaedrica con un diametro medio di 100 nm e sono circondate esternamente dal pericapside o envelope, formato da un doppio strato lipidico che origina dalla cellula ospite (Arlaud et al., 2002). L'envelope presenta 72 sporgenze o spikes rappresentate da complessi eterodimerici di glicoproteine composte da trimeri della glicoproteina di superficie gp120, fondamentale per l'interazione con le cellule bersaglio, e della glicoproteina transmembrana gp41 legate insieme. Il legame tra gp120 e gp41 non è covalente e perciò la proteina gp120 potrebbe spontaneamente separarsi ed essere ritrovata nel siero o a livello del tessuto linfatico nei pazienti sieropositivi.

All’interno dell’envelope troviamo la matrice, formata dalla proteina p17, che a sua volta ricopre un capside conoide formato da polimeri della proteina del core p24 (Seitz, 2016). All’interno del capside troviamo due copie del genoma virale, ovvero una duplice copia di RNA a singolo filamento, che è stabilizzato in un complesso di ribonucleoproteine, grazie all’interazione con circa 2000 copie delle proteine del nucleocapside p7 e p9. Oltre al genoma, all’interno del capside si trovano tre enzimi virali fondamentali, rappresentati dalla proteasi (PR), trascrittasi inversa (RT) e integrasi (IN), e le proteine accessorie Nef, Vif e Vpr (Freed, 2001).

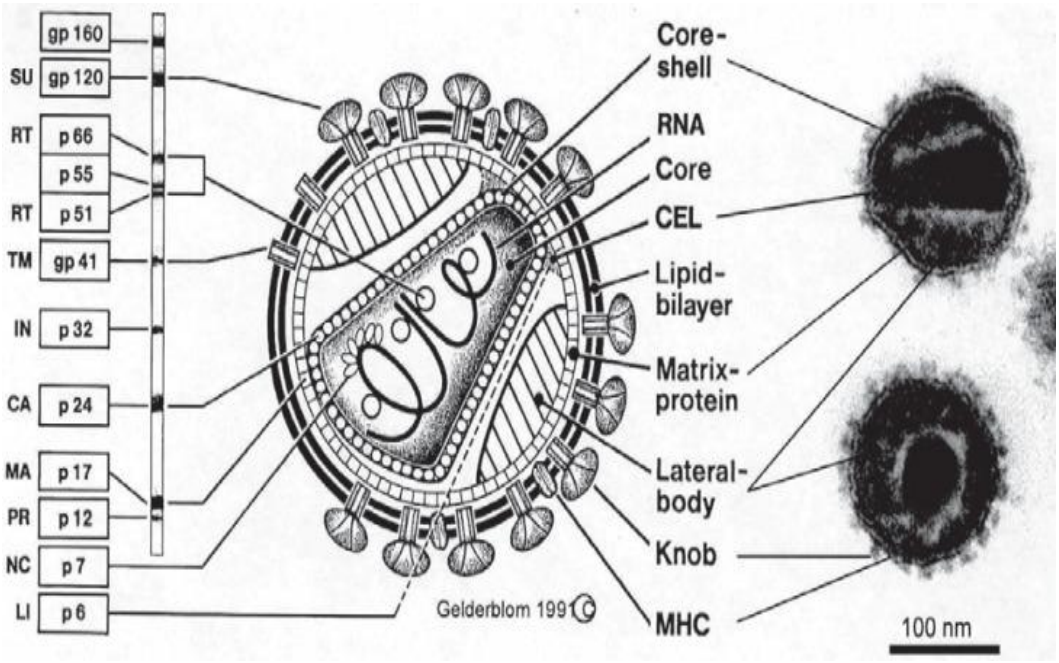


Figura 6. Struttura del virione di HIV

I geni presenti nell'RNA virale codificano per le diverse proteine virali. In modo analogo ad altri retrovirus, il gene *gag*, che rappresenta la prima open reading frame, codifica per le proteine del core e della matrice p7/p9, p17 e p24; il gene *pol* (la seconda open reading frame) codifica degli enzimi fondamentali per il ciclo replicativo virale, ovvero la proteasi, l'integrasi e la trascrittasi inversa; infine il gene *env* codifica per la proteina gp160, che in seguito all'azione della proteasi da origine alla due proteine dell'envelope gp120 e gp41. Oltre a queste proteine strutturali vengono prodotte delle proteine regolatorie codificate dai geni tat, rev, nef, vif, vpr e vpu, presente solo in HIV-1, o vpx, presente solo in HIV-2 (Barré-Sinoussi, 1996). La presenza di vpu o vpx, infatti, rappresenta la principale differenza del genoma tra HIV-1 e HIV-2.

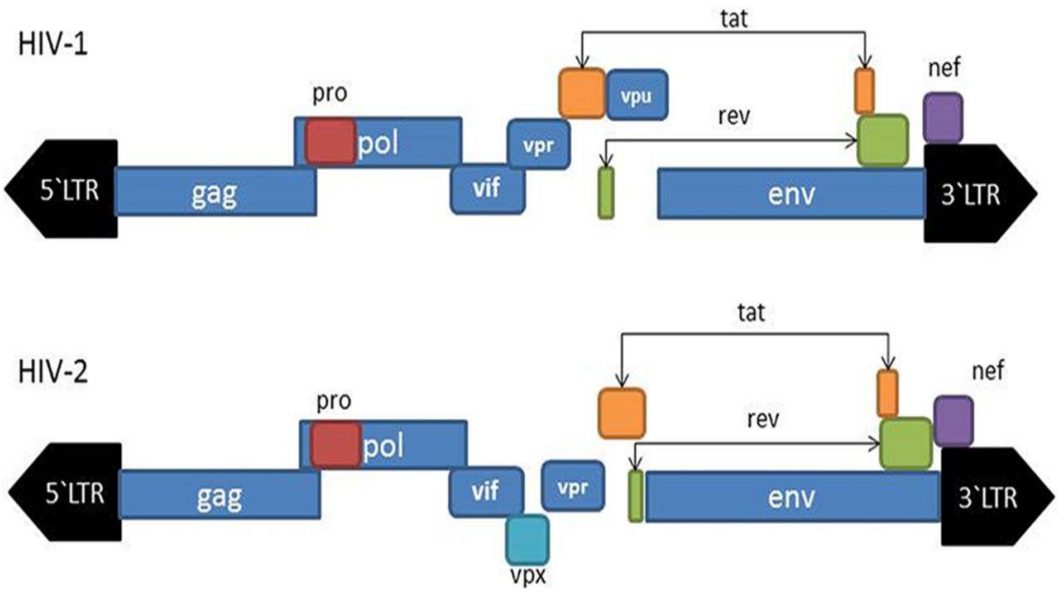


Figura 7. Confronto fra la struttura del genoma di HIV-1 e HIV-2

1.4 Ciclo replicativo

Essendo un virus dotato di envelope, il virus dell'HIV deve fondere il proprio doppio strato fosfolipidico che lo ricopre con la membrana della cellula bersaglio per poter così trametterе il core virale ed il proprio genoma (Grove & Marsh, 2011). Le cellule bersaglio sono delle cellule viventi invase o capaci di essere invase da un agente infettivo: per quanto riguarda l'HIV la glicoproteina di superficie gp120 ha un sito di legame ad alta affinità per la molecola CD4, una glicoproteina di membrana trovata in diverse cellule ematopoietiche ed espressa principalmente nei linfociti T-helper, ma anche in altre cellule delle serie monocito-macrofagica (Haseltine, 1991).

Il legame tra gp120 e CD4 attiva delle alterazioni conformazionali in gp120 che permettono l'interazione con un co-recettore, rappresentato principalmente dal CC chemokine receptor 5 (o CCR5) o dal CxC chemokine receptor 4 (o CXCR4). Queste interazioni determinano una attivazione di gp41 che permette la fusione fra il virus e la membrana della cellula bersaglio.

Nel momento in cui viene internalizzato, il virus dell'HIV perde il proprio rivestimento, permettendo il rilascio del genoma virale nel citoplasma della cellula, e la trascrittasi inversa inizia a svolgere il proprio compito, retrotrascrivendo l'RNA virale in cDNA a doppia elica (Zheng et al., 2005). Il cDNA virale, in associazione con altre proteine virali, forma il complesso di pre-integrazione (PIC), che viene trasportato al nucleo e, grazie all'attività dell'integrasi virale, avviene l'integrazione nelle regioni trascrizionalmente attive del genoma della cellula ospite. Il genoma virale integrato nel DNA della cellula ospite prende il nome di provirus.

Come per tutti i retrovirus, la replicazione del provirus dell'HIV si basa principalmente su una trascrizione efficiente che dipende dalla capacità trascrittiva della cellula ospite e dall'azione della proteina virale tat (transactivator of transcription) che aumenta la capacità trascrittiva della RNA Polimerasi II della

cellula ospite. Non tutte le cellule permettono la replicazione virale. Queste vengono definite latentemente infette e rappresentano un resevoir per l'infezione non essendo aggredibili dal sistema immunitario o dalla terapia farmacologica (Tyagi & Bukrinsky, 2012). Le cellule latenti possono comunque riattivarsi e permettere quindi la replicazione virale.

Il fattore coinvolto nella riattivazione sembra essere il fattore di trascrizione NF-kB che viene a sua volta attivato dalla citochina TNFα, dalle IL-1 e IL-17 e in seguito al riconoscimento dell'antigene da parte del recettore dei linfociti T; ovvero tutte situazioni in cui si ha stimolazione del sistema immunitario (Swingler et al., 1994).

A questo punto il provirus integrato può essere trascritto in RNA dalla RNA Polimerasi II della cellula ospite. Tutti i trascritti virali originano dalla stessa posizione del genoma, ovvero l'estremità 5'-LTR, che rappresenta l'unico promoter trasportato dal virus. All'inizio tutti i trascritti sono interi o full-lenght: alcuni di questi verranno utilizzati come RNA messaggero dall'apparato di traduzione della cellula per produrre le proteine di *gag* e *pol*, gli altri andranno incontro a uno o più tagli, mediati da uno spliceosoma nucleare, che daranno origine a mRNA *singly* o *multiply spliced* che verranno utilizzati per produrre le altre proteine virali (Terwilliger et al., 1990).

Completata la sintesi di tutte le proteine virali può cominciare il processo di assemblaggio delle particelle virali che avviene a livello della membrana plasmatica della cellula infettata. L'incapsidazione dei due filamenti di RNA virale è permessa dall'interazione fra l'elemento di incapsidazione (o packaging signal) e la proteina *gag*; inoltre anche le glicoproteine di *env*, gp120 e gp41, sottoforma del loro precursore gp160, vengono incorporate nel virione assieme ai precursori gag e gag-pol. Il virus così assemblato è pronto per lasciare la cellula attraverso un processo di gemmazione. Inoltre, durante o subito dopo la fuoriuscita dalla cellula, si ha il processo di maturazione del virus mediato dalla proteasi virale,

precedentemente internalizzata nel virione, che tramite tagli proteolitici permette la trasformazione dei precursori proteici nelle proteine mature (Freed, 2001).

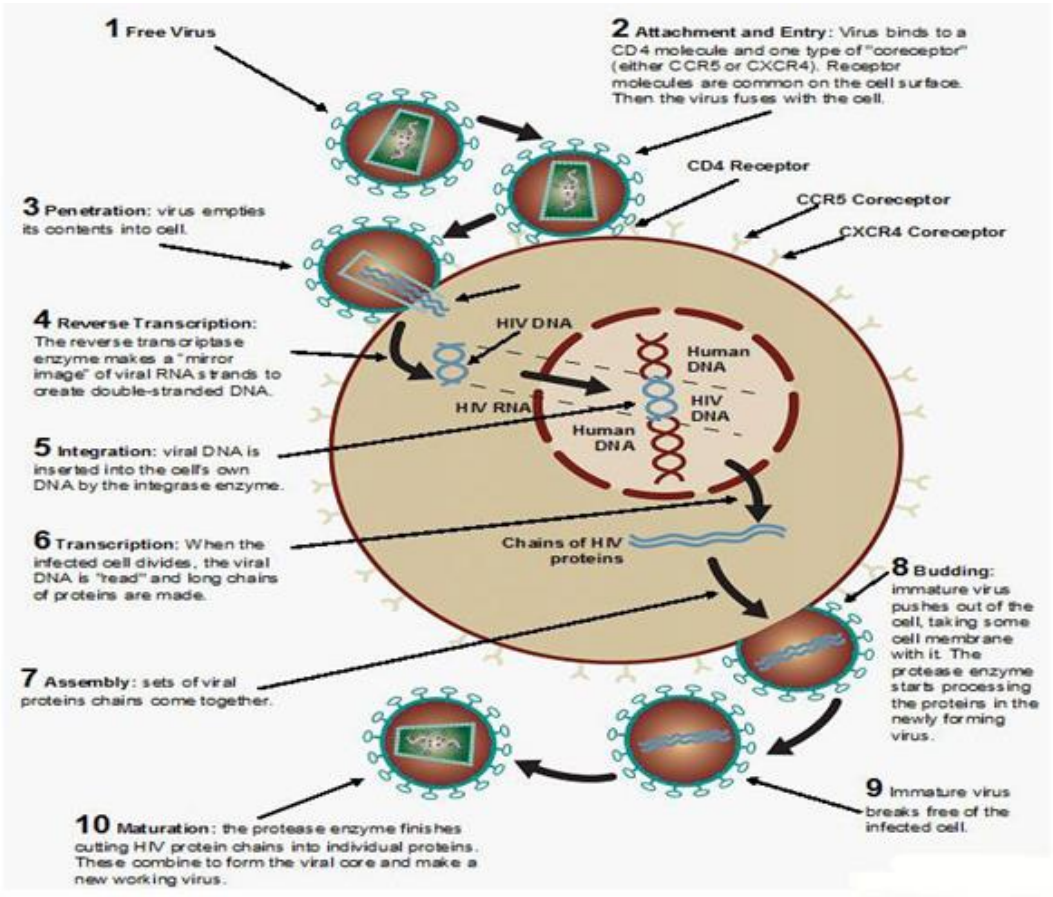


Figura 8. Ciclo replicativo di HIV

1.5 Modalità di trasmissione

Il virus dell'HIV può essere ritrovato in diversi fluidi biologici di una persona infetta, rappresentati da sangue, liquido seminale e pre-seminale, fluidi rettali, secrezioni vaginali e latte materno. In base a questo sono state definite tre modalità principali di trasmissione: trasmissione per via ematica, per via sessuale e trasmissione verticale o perinatale (Rubin & Tolkoff-rubin, 1988).

Exposure route	Risk per 10 000 exposures to an infected source	95% Confidence interval
Parenteral exposure		
Blood transfusion	9250	(8900–9610)
Needle-sharing injection drug use	63[b]	(41–92)
Percutaneous needle stick	23	(0–46)
Sexual exposure[a]		
Receptive anal intercourse	138[c]	(102–186)
Insertive anal intercourse	11[d]	(4–28)
Receptive penile–vaginal intercourse	8[e]	(6–11)
Insertive penile–vaginal intercourse	4[e]	(1–14)
Receptive oral sex	Low[f]	(0–4)
Insertive oral sex	Low[f]	(0–4)
Vertical transmission		
Mother-to-child transmission	2260[g]	(1700–2900)

Figura 9. Rischio di trasmissione dell'infezione per diversi metodi di trasmissione, espresso su 10.000 esposizioni per ogni modalità

La trasmissione per via sessuale rappresenta la forma più frequente: oltre il 75% delle infezioni da HIV sono acquisite tramite questa modalità. Durante le fasi inziali di questa epidemia, la trasmissione fra omosessuali rappresentava la forma predominante nei paesi industrializzati, anche se ora la trasmissione eterosessuale rappresenta la forma principale (Quinn, 1996). Il rapporto più a rischio è sicuramente quello anale ricettivo, con un rischio di trasmissione di circa 138/10.000 (1.38%), seguito da quello anale attivo, dal rapporto ricettivo pene-vagina e da quello insertivo pene-vagina. Per quanto riguarda il sesso orale il rischio di trasmissione è molto basso, in ogni caso i pazienti devono essere avvertiti della possibilità, seppur bassa, di trasmissione oro-genitale (Queirós & Da Costa, 2019).

Ci sono inoltre tutta una serie di fattori che possono modificare il rischio di trasmissione per via sessuale. I fattori che aumentano il rischio sono una elevata

carica virale, ulcere a livello genitale che facilitano la penetrazione del virus e la presenza di co-infezioni a livello genitale; mentre i fattori che diminuiscono la probabilità sono la terapia antiretrovirale, la profilassi pre-esposizione, l'uso del preservativo e la circoncisione maschile. È stato stimato che l'utilizzo combinato di trattamento antiretrovirale e l'utilizzo del preservativo riducano la possibilità di trasmissione di HIV fino all' 99.2% (Patel et al., 2014).

Cofactor	Relative risk	95% Confidence interval
Factors that increase transmission probability		
High plasma viral load (log_{10} copies/ml)	2.89	(2.19, 3.82)
Genital ulcer disease[a]	2.65	(1.35, 5.19)
Acute versus asymptomatic stage of disease	7.25[b]	(3.05, 17.3)
Late versus asymptomatic stage of disease	5.81[b]	(3.00, 11.4)
Factors that decrease transmission probability		
Use of antiretrovirals by HIV-infected partner		
Early versus delayed treatment	0.04[c]	(0.01, 0.27)
Received treatment versus no treatment	0.08	(0.00, 0.57)
Pre-exposure prophylaxis of HIV-uninfected partner		
Among heterosexual couples	0.29[d]	(0.17, 0.47)
Among MSM	0.56	(0.37, 0.85)
Among injection drug users	0.52	(0.28, 0.90)
Condom use	0.20[e]	(0.08, 0.47)
Male circumcision (heterosexual partners)		
HIV-uninfected partner is male	0.50[f]	(0.34, 0.72)
HIV-uninfected partner is female	0.80	(0.53, 1.36)
Male circumcision (MSM)		
Insertive partner is HIV-uninfected	0.27[g]	(0.17, 0.44)
Receptive partner is HIV-uninfected	1.20[g]	(0.63, 2.29)

Figura 10. Fattori che influiscono sulla probabilità di trasmissione per via sessuale

Le modalità di trasmissione per via ematica comprendono la trasfusione di sangue infetto, la condivisione di siringhe fra tossicodipendenti e lesioni percutanee accidentali con aghi, soprattutto fra il personale sanitario. La trasmissione fra tossicodipendenti rappresenta un serio problema non solo per i paesi sviluppati, ma anche per aree come il Sud-Est Asiatico e alcuni paesi dell'America Latina. Il tasso di sieropositività in questa categoria di pazienti presenta una notevole variabilità a livello mondiale e in alcune regioni può raggiungere il 60-70%. Sebbene il numero di infezioni di HIV in pazienti che utilizzano sostanze stupefacenti continui ad aumentare in alcune aree del mondo, grazie a programmi di prevenzione specifici per questa categoria di pazienti si è potuta ottenere una stabilizzazione dei tassi di infezione e in alcuni casi anche un declino (Quinn, 1996).

Per quanto riguarda la trasmissione tramite trasfusione di sangue infetto, attualmente non rappresenta più un problema rilevante grazie all'introduzione di stringenti criteri di selezione dei donatori associato ad uno screening ematico sempre più sensibile e specifico: fin dalla fine dello scorso secolo infatti, lo screening dei donatori di sangue è diventato obbligatorio in tutto il mondo (Stoyanov et al., 2019).

La trasmissione verticale madre-figlio di HIV può seguire tre modalità: infezione in utero, inoculazione o ingestione di sangue o altri fluidi infetti durante il parto o per assunzione di latte materno infetto. In assenza di trattamento la probabilità di trasmissione materno-fetale è alta, soprattutto in quelle popolazioni dove un allattamento prolungato rappresenta la norma. Si stima infatti che in assenza di terapia antiretrovirale il rischio di infezione sia di circa il 15-30% durante la gravidanza e il parto, con un ulteriore 10-20% rischio di trasmissione durante l'allattamento. I fattori che permettono di ridurre la probabilità di rischio consistono principalmente nel somministrare la terapia antiretrovirale alla madre durante la gravidanza e il parto, e/o al neonato immediatamente dopo la nascita, inoltre si è visto che effettuare il parto tramite taglio cesareo e allattare il bambino con latte artificiale contribuiscono ulteriormente a ridurre il rischio di infezione (Teasdale et al., 2011).

1.6 Storia naturale dell'infezione

Sebbene il decorso dell'infezione da HIV possa presentare delle differenze fra i singoli pazienti, è possibile individuare uno schema comune di sviluppo della patologia. Questo prevede tre diverse fasi: una fase iniziale di infezione acuta in cui si ha lo sviluppo di una risposta immunitaria cellulare e umorale, una fase di latenza clinica durante la quale il paziente è di solito asintomatico e una fase finale di malattia conclamata (AIDS) in cui insorge l'immunodeficienza e il paziente presenta dei sintomi costituzionali, oltre che una maggiore suscettibilità allo

sviluppo di infezioni e tumori. In assenza di trattamento la morte insorge circa tre anni dopo lo sviluppo dell'immunodeficienza (Epstein et al., 1993).

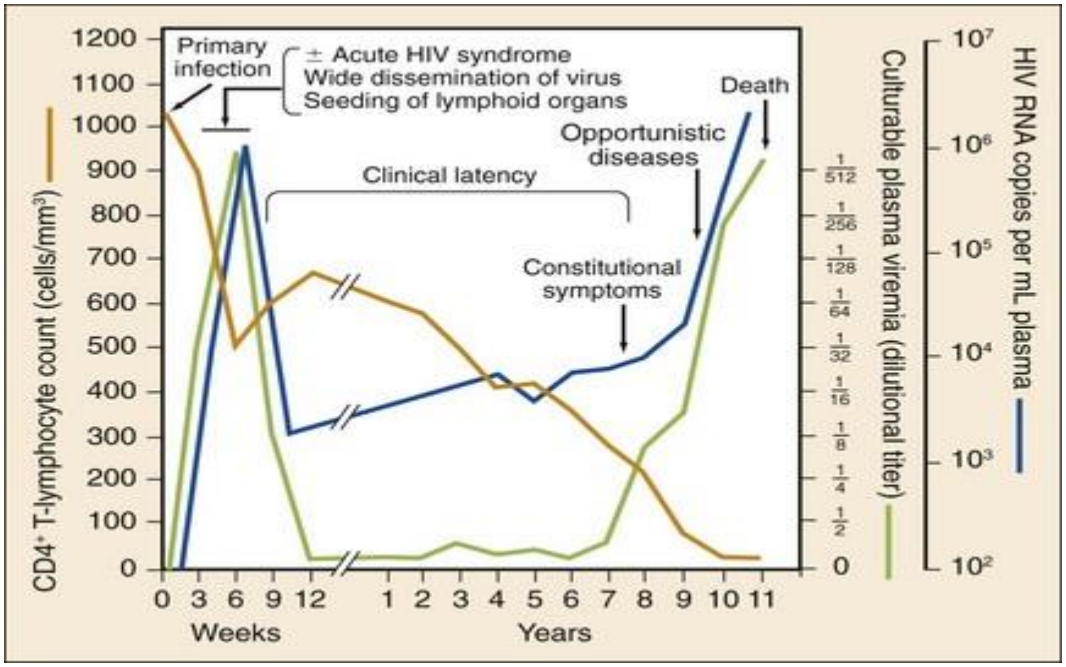


Figura 11. Storia naturale dell'infezione da HIV

La prima fase, ovvero la fase dell'infezione acuta, comincia nel momento in cui il paziente si contagia con il virus dell'HIV. In questo periodo si può osservare una elevata replicazione virale a livello del tessuto linfatico delle mucose infettate e a livello dei linfonodi, con un aumento dell'HIV-RNA che può arrivare fino a 100 milioni di copie/cm^3 e che diventa rilevabile nel sangue dopo circa due settimane dall'infezione grazie a tecniche di amplificazione con RT-PCR (Daar et al., 1993). Contemporaneamente al rialzo della viremia si ha una diminuzione dei linfociti T CD4+, che rappresentano il principale bersaglio del virus. I livelli di viremia non rimangono comunque elevati a lungo, in quanto si ha un'attivazione del sistema immunitario del paziente che nelle settimane successive porta ad una riduzione importante della replicazione virale e ad una riduzione delle copie circolanti del virus che raggiungono un livello stabile, detto "viral setpoint". Questo si accompagna anche ad un rialzo dei CD4+ che comunque non tornano mai ai livelli di partenza. Il ruolo dell'immunità cellulo-mediata, in particolare l'attività citotossica mediata dai linfociti T CD8+, sembra essere fondamentale per il

controllo della viremia nelle fasi più precoci dell'infezione e prima della comparsa degli anticorpi. Lo sviluppo degli anticorpi specifici contro l'HIV, o sieroconversione, si verifica tra le tre e le cinque settimane dopo l'infezione. Il periodo in cui si ha la presenza dell'infezione ma gli anticorpi non sono ancora rilevabili è detto periodo finestra: in questo lasso di tempo il paziente, seppur sieronegativo, è in grado di trasmettere l'infezione (Fanales-Belasio et al, 2011). Contemporaneamente al rialzo della viremia, in un periodo compreso fra le tre e le sei settimane dall'infezione, il paziente può sviluppare dei sintomi aspecifici simil-influenzali e simil-mononucleosici come febbre, mal di gola, rash cutanei, linfoadenomegalia, splenomegalia, mialgia, artriti e manifestazioni neurologiche come meningiti. Solo il 50-70% dei pazienti è sintomatico e questo, unito alla mancanza di una sintomatologia severa e specifica, potrebbe in parte spiegare come la fase iniziale dell'infezione non venga sempre diagnosticata (Fauci et al., 1996). Questi sintomi, quando presenti, durano di solito dai sette fino ai quindici giorni e la loro scomparsa coincide con la riduzione della replicazione virale e la formazione di anticorpi anti-HIV.

In seguito alla comparsa di una immunità HIV-specifica, i pazienti vanno incontro ad una fase di latenza clinica che dura per anni. In questo periodo il paziente è asintomatico, ma la costante seppur bassa replicazione virale porta ad una progressiva riduzione dei linfociti T CD4+.

Quando quest'ultimi raggiungono una concentrazione inferiore ai 200/µL si entra nell'ultima fase dell'infezione, ovvero la fase dell'immunodeficienza o AIDS. Durante questa fase il paziente presenta dei sintomi costituzionali e la presenza di infezioni opportunistiche e tumori che si verificano in seguito alla riduzione dell'attività immunitaria e che portano al decesso del paziente in breve tempo. Sintomi costituzionali che si verificano comunemente comprendono malessere, febbre, sudorazioni notturne, diarrea e perdita di peso di almeno il 10% rispetto al peso di partenza. Questi sintomi posso risultare estremamente debilitanti per il paziente e posso essere trattati con antipiretici, antidiarroici e steroidi (Mindel &

Tenant-flowers, 2001). I tumori che si possono verificare durante la fase di AIDS comprendono principalmente il Sarcoma di Kaposi, linfomi Hodgkin e non-Hodgkin e il carcinoma della cervice uterina (Clifford & Franceschi, 2009), mentre tra le infezioni opportunistiche abbiamo quelle causate da Pneumocystis carinii, Toxoplasma gondii, Candida albicans, Cryptococcus neoformans, Histoplasma capsulatum, Mycobacterium avium complex, Mycobacterium tuberculosis, Herpes simplex virus, Varicella-Zoster virus e Citomegalovirus (Gallant, 1994). In assenza di trattamento, il tempo medio che trascorre tra l'infezione primaria e la morte AIDS-correlata è di circa undici anni.

Capitolo 2: TERAPIA ART

Lo sviluppo di una efficace terapia antiretrovirale per il trattamento dell'HIV rappresenta sicuramente uno dei maggiori traguardi raggiunti dalla medicina moderna. Sebbene non sia ancora attualmente possibile l'eradicazione definitiva del virus, l'evoluzione della terapia ha permesso di ridurre la mortalità e la morbilità connesse all'infezione, con una qualità e aspettativa di vita dei pazienti infetti che è ormai simile a quella della popolazione sana. Rimangono comunque dei limiti in questa terapia oltre all'impossibilità di guarigione definitiva, come gli effetti collaterali dei farmaci e la necessità di una assunzione quotidiana che può portare a problemi di compliance (Daar, 2017).

2.1 I primi farmaci e l'introduzione della HAART

Nel 1987 fu approvato dalla FDA americana (*Food and Drug Administration*) il primo farmaco antiretrovirale, la zidovudina (ZDV), un inibitore nucleosidico della trascrittasi inversa (NRTI), dopo aver dimostrato di essere in grado di fornire rispetto al placebo un importante beneficio sulla sopravvivenza dei pazienti affetti da uno stato di AIDS avanzato (Pau & George, 2014). Sebbene la monoterapia con questo farmaco porti ad una riduzione della carica virale, un rallentamento nella progressione virale e una aumentata sopravvivenza, l'uso di un singolo farmaco non determinava una soppressione virale duratura, inoltre fu chiaro che l'infezione da HIV non potesse essere eradicata da un paziente e di come l'abilità del virus di mutare potesse portare ad un rapido sviluppo di farmacoresistenza verso la zidovudina (Das & Arnold, 2013). In poco tempo altri tre NRTI vennero approvati: zalcitabina, didanosina e stavudina. Questi presentavano degli importanti effetti collaterali e infatti nessuno di questi è frequentemente utilizzato oggigiorno. La combinazione fra zidovudina e uno di questi tre farmaci portò a qualche risultato incoraggiante, con pazienti che avevano una maggior sopravvivenza e un aumento dei linfociti CD4+. I risultati ottenuti risultarono,

comunque, poco duraturi e sebbene ci furono dei modesti benefici clinici, la tollerabilità verso questi farmaci rimase bassa.

La svolta si ebbe negli anni 1995-1996, con l'introduzione di farmaci antiretrovirali appartenenti ad altre classi, come la Nevirapina, il primo inibitore non nucleosidico della trascrittasi inversa (NNRTI), o come saquinavir e indinavir, inibitori della proteasi (Vella et al., 2012). La presenza di un numero maggiore di farmaci con azione diversa portò allo sviluppo della terapia HAART (Highly Active AntiRetroviral Therapy, "terapia antiretrovirale altamente attiva"), basata sull'utilizzo di tre farmaci. Le combinazioni più comunemente utilizzate comprendono l'utilizzo di due diversi inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa (NRTI) associati ad un inibitore della proteasi (PI), ad un inibitore non nucleosidico della trascrittasi inversa (NNRTI) o ad un inibitore della integrasi (INI). Questa terapia è risultata estremamente efficace nel ridurre mortalità e morbilità HIV-correlate (Palella et al., 1998), inoltre ha permesso di sopprimere l'HIV RNA plasmatico fino a livelli non rilevabili con tecniche di laboratorio e di prevenire lo sviluppo di resistenze farmacologiche nel virus.

2.2 Le differenti classi di farmaci antiretrovirali

Attualmente si hanno a disposizione più di trenta farmaci per il trattamento dei pazienti sieropositivi (Atta et al., 2019), divisi in cinque differenti classi: inibitori nucleosidici e nucleotidici della trascrittasi inversa, inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa, inibitori delle proteasi, inibitori dell'integrasi e inibitori dell'ingresso.

2.2.1 Inibitori nucleosidici e nucleotidici della trascrittasi inversa

Gli inibitori nucleosidici/nucleotidici della trascrittasi inversa sono stati la prima classe di farmaci approvata per il trattamento dell'HIV e sono ancora frequentemente utilizzati come il "backbone" o ossatura della terapia, in quanto la maggior parte dei regimi terapeutici contiene almeno due di questi farmaci.

Sono otto i farmaci disponibili appartenenti a questa categoria: abacavir (ABC), didanosina (ddI), emtricitabina (FTC), lamivudina (3TC), stavudina (d4T), tenofovir, disponibile come profarmaco tenofovir disoproxil fumarato (TDF) e tenofovir alafenamide fumarato (TAF), zalcitabina (ddC) e zidovudina (AZT).

Il meccanismo d'azione di questi farmaci prevede l'interazione con un enzima posseduto solo del virus e fondamentale per il ciclo replicativo virale: la trascrittasi inversa, che trasforma l'RNA virale in DNA a doppia catena. Ogni NRTI è infatti un analogo nucleosidico o nucleotidico del DNA, come analoghi della timina (zidovudina, stavudina), della citosina (lamivudina, emtricitabina), guanina (abacavir) e adenosina (didanosina, tenofovir). Tenofovir è attualmente l'unico nucleotide (monofosfato) NRTI approvato (Looney, 2015). Come i nucleosidi naturali, gli NRTI vengono trifosforilati da una chinasi intracellulare prima di essere incorporati nella catena di DNA. Mancando di un gruppo ossidrilico all'estremità 3' della molecola, essi non sono in grado di legare ulteriori nucleotidi e questo porta all'interruzione dell'allungamento della catena di DNA (Tressler & Godfrey, 2012).

I meccanismi attraverso i quali il virus può sviluppare resistenza sono principalmente due: per discriminazione, ovvero la capacità della trascrittasi di discriminare un NRTI dal suo analogo, o per fosforolisi del NRTI dopo la sua incorporazione nel DNA virale (Dionne, 2019).

Questa classe di farmaci presenta una tossicità mitocondriale, responsabile dei principali effetti collaterali come steatosi epatica con acidosi lattica, miopatie, neuropatie periferiche e lipoatrofia (Atta et al., 2019).

ZIDOVUDINA

La zidovudina (AZT), o 3'-azido-2',3'-dideossitimidina, è stato il primo farmaco antiretrovirale approvato per il trattamento dell'HIV. È stato sintetizzato per la prima volta nel 1964 come potenziale agente chemioterapico ma è nel 1985 che se ne osserva la sua capacità di inibire la replicazione di HIV-1 in vitro ed è nel 1987

che si ha l'approvazione per l'utilizzo clinico. È un composto che è strutturalmente simile alla timidina ma differisce da questa per avere un gruppo azoto (N3), al posto di un gruppo ossidrile (OH) alla posizione 3' dell'anello di ribosio, fondamentale per interrompere l'allungamento della catena di DNA virale, in quanto impedisce il legame fosfodiesterico 5'-3' con il nucleotide successivo (Mcleod & Hammer, 1992). Presenta un buon assorbimento per via orale ed è sottoposto a glucuronazione a livello epatico, l'eliminazione avviene a livello renale. Deve essere assunta due volte al giorno e può essere prescritta con lamivudina (Combivir) o con lamivudina e abacavir (Trizivir) per formare il backbone di un regime di combinazione. La posologia consigliata è di 200 mg ogni 8 ore oppure 300 mg ogni 12 ore. Gli effetti collaterali più comuni sono la tossicità a livello midollare con principalmente anemia macrocitica e neutropenia, nausea, vomito e mal di testa. Meno frequentemente si possono avere miopatia, cardiomiopatia e acidosi lattica. Vista la sua efficacia a lungo termine e la sua sicurezza per le donne in gravidanza e per il feto, la zidovudina rimane uno degli antiretrovirali raccomandati per il trattamento in gravidanza per impedire la trasmissione perinatale. Per quanto riguarda le altre tipologie di pazienti l'utilità della zidovudina è limitata, vista la sua tossicità e la necessità di assunzione due volte al giorno (Pau & George, 2014).

DIDANOSINA

La didanosina (ddI), o 2',3'-dideossinosina, è stata messa in commercio nell'ottobre del 1991 ed è stato il secondo farmaco antiretrovirale ad essere approvato dalla FDA americana per il trattamento dell'infezione da HIV. È un analogo dideossinucleosidico, che viene fosforilato nel suo metabolita attivo dideossiadenosina trifosfato (ddATP) a livello intracellulare. A concentrazioni terapeutiche inibisce la trascrittasi inversa virale. La somministrazione può essere per via orale o per via parenterale, ma quando somministrata per via orale deve essere somministrata con formulazioni acido-resistenti, vista la sua labilità a pH acido. È capace di oltrepassare la barriera emato-encefalica ma la sua concentrazione nel liquido cerebrospinale è bassa. Una volta assorbita è

ampiamente metabolizzata a ddATP, ad acido urico o entra nel pool metabolico delle purine. Gli effetti collaterali principali comprendono pancreatiti e neuropatie periferiche, oltre a questi si possono avere iperuricemia, iperglicemia reversibile, diarrea, nausea, vomito, mal di testa, ansia, vertigini, agitazione e depressione (Perry & Balfour, 1996). Il dosaggio attualmente raccomandato è di 200 mg per via orale distribuiti in due somministrazioni giornaliere in pazienti con peso superiore ai 60 kg e di 125mg se il peso è inferiore ai 60 kg. La didanosina, poco dopo il suo ingresso nella pratica clinica, veniva utilizzata come monoterapia in alternativa alla zidovudina, mentre oggigiorno può essere utilizzata in combinazione con altri farmaci antiretrovirali anche se raramente viene prescritta (Dziuban et al., 2015).

ZALCITABINA

La zalcitabina (ddC; 2'-3'-dideossicitidina) è stato il terzo farmaco antiretrovirale ad essere approvato ma attualmente è poco utilizzata nella gestione dei pazienti con HIV e negli Stati Uniti ne è stata sospesa la produzione dal 2006. Tra gli analoghi nucleosidici approvati è probabilmente il più debole. Questo farmaco trova indicazione nel trattamento delle infezioni da HIV, in associazione con altri agenti antiretrovirali. La posologia è di 0,75 mg ogni 8 ore.

STAVUDINA

La stavudina (d4T; 2'-3'-dideidro-3'-dideossitimidina) è stata il quarto analogo nucleosidico approvato per il trattamento dell'infezione da HIV, per cui trova indicazione in associazione con altri agenti antiretrovirali. Come la zidovudina, la stavudina è un analogo della timidina. Esiste un potenziale antagonismo tra questi due farmaci, quindi tale associazione è da evitare. La posologia consigliata è di 40 mg ogni 12 ore (se il peso corporeo è superiore ai 60 kg) oppure di 30 mg ogni 12 ore (se il peso corporeo è inferiore ai 60 kg).

LAMIVUDINA

La lamivudina (3TC; 2'-3'-dideossi-3'-tiacitidina) è il quinto degli analoghi nucleosidici ad essere stato autorizzato negli Stati Uniti. Nella pratica attuale, la lamivudina o l'emtricitabina, un farmaco strettamente correlato, sono spesso

presenti in molti differenti regimi di combinazione. Questi due farmaci e l'inibitore nucleosidico della trascrittasi inversa tenofovir hanno anche un'attività contro il virus dell'epatite B. Per questo motivo, una riacutizzazione dell'epatite può essere osservata nei pazienti co-infetti che iniziano e/o interrompono questi farmaci a causa dell'effetto confondente diretto del trattamento e del rischio di IRIS (e cioè, sindrome infiammatoria da immunoricostituzione). Per prevenire lo sviluppo di ceppi resistenti di HIV, questi farmaci non dovrebbero mai essere usati da soli nel trattamento dell'epatite B in pazienti con infezione da HIV. La lamivudina è disponibile da sola o in formulazioni comprendenti zidovudina e/o abacavir. Uno dei motivi di questa eccellente sinergia tra lamivudina e gli altri analoghi nucleosidici può essere rappresentato dal fatto che ceppi del virus dell'HIV resistenti alla lamivudina dimostrano un'aumentata sensibilità ad altri analoghi nucleosidici, così che lo sviluppo di una doppia resistenza è più difficile. In aggiunta vi è l'ipotesi secondo cui ceppi dell'HIV resistenti alla lamivudina possano essere meno virulenti e meno capaci di generare nuovi ceppi mutanti, rispetto ai ceppi di HIV lamivudina-sensibili. La lamivudina è, tra tutti gli analoghi nucleosidici, il meglio tollerato ed il meno tossico, considerando che il principale effetto collaterale è rappresentato dall'epatotossicità. La posologia raccomandata è di 150 mg ogni 12 ore.

EMTRICITABINA

L'emtricitabina (FTC; 5-fluoro-1-(2R,5S)-[2-(idrossimetil)-1,3ossatiolan-5-y]citosina) è un enantiometro negativo di un tioanalogocitidinico con una fluorina in posizione 5. È stato approvato l'uso in associazione con altri farmaci antiretrovirali per il trattamento dell'infezione da HIV-1 nell'adulto. Rispetto alla lamivudina ha un'attività simile, ma una più lunga emivita. È disponibile sia da sola che in associazione con tenofovir ed efavirenz. La posologia è di 200 mg al giorno ed il principale effetto collaterale è rappresentato dall'epatotossicità.

ABACAVIR

{(1s,cis)-4-[2-amino-6-(ciclopropilamino)-9H-purin-9-yl]-2-ciclopentene-1-metanolsulfato (sale)(2:1)} è un analogo sintetico carbociclico del nucleoside guanosina. È approvato per essere usato con altri agenti antiretrovirali per il trattamento dell'infezione da HIV-1. La posologia consigliata è di 300 mg ogni 12 ore. Ceppi di HIV resistenti all'abacavir sono tipicamente resistenti anche alla lamivudina, alla didanosina ed alla zalcitabina. L'abacavir è disponibile in formulazione da solo oppure associato a lamivudina oppure a lamivudina e zidovudina.

TENOFOVIR

Il tenofovir è un diesterefosfonato aciclico analogo nucleotidico dell'adenina monofosfato. Il diestere viene idrolizzato a tenofovir ed è il primo analogo nucleotidico approvato per il trattamento dell'infezione da HIV, in associazione con altri farmaci antiretrovirali. È disponibile sottoforma di due differenti profarmaci: tenofovir disoproxil fumarato (TDF) e tenofovir alafenamide fumarato (TAF), che sono convertiti in tenofovir difosfato a livello intracellulare. Viene metabolizzato a livello renale e può essere, quindi, causa di insufficienza renale (tipo sindrome di Fanconi), con conseguente ipofosforemia. La posologia raccomandata è di 300 mg al giorno ed è chiaramente sconsigliato nei pazienti con insufficienza renale. La co-somministrazione con didanosina porta ad un incremento del 60% dei livelli di didanosina e pertanto la dose di quest'ultima deve essere aggiustata ed i pazienti monitorati con attenzione se questi due farmaci sono utilizzati in combinazione. Inoltre, l'aumento del numero di cellule CD4+ può attenuarsi nei pazienti che assumono la combinazione. La co-somministrazione di tenofovir ed atazanavir porta ad una riduzione dei livelli di atazanavir e pertanto è necessario aggiungere ritonavir a basse dosi quando questi farmaci sono utilizzati in combinazione. Il tenofovir è disponibile da solo oppure associato ad emtricitabina oppure ad emtricitabina ed efavirenz.

2.2.2 Inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa

Gli inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa (NNRTI) sono una classe di farmaci antiretrovirali che alterano la funzione dell'enzima trascrittasi inversa. Il loro meccanismo d'azione si differenzia però dagli altri inibitori della trascrittasi, gli NRTI, in quanti questi non si comportano da analoghi strutturali dei nucleotidi, ma vanno a legarsi ad un sito allosterico dell'enzima. Questo legame induce un cambiamento conformazionale nell'enzima che va a ridurre la sua attività polimerasica, impedendo la formazione di una corretta copia di DNA e interferendo quindi con la replicazione virale. Questi farmaci sono attivi solo nei confronti del virus HIV-1, non avendo invece alcun effetto su HIV-2. Il primo NNRTI ad essere approvato fu la nevirapina nel 1996 e, ad oggi, sono sei i farmaci di questa classe utilizzati: nevirapina (NVP), delaverdina (DLV), efavirenz (EFV), etravirina (ETR), ripilvirina (RPV) e doravirina (DOR), con l'elsulfavirina approvato solo in Russia (Wang et al., 2019). Questi farmaci possono essere divisi in due gruppi: i NNRTI di prima generazione (come delaverdina e nevirapina) e quelli di seconda generazione (come efavirenz). I farmaci di prima generazione hanno lo svantaggio di indurre un rapido sviluppo di resistenze nel virus, attraverso l'accumulo di mutazioni di farmacoresistenza nel gene codificate la trascrittasi inversa, che si verificano precocemente dopo la somministrazione del farmaco, visto l'alto turnover virale e il tasso di mutazione elevato. Quelli di seconda generazione sono caratterizzati da una maggiore potenza, un più ampio spettro di attività contro HIV-1 e proprietà farmacocinetiche più favorevoli (Martins et al., 2008). Effetti collaterali comuni comprendono reazioni cutanee anche gravi, fino alla sindrome di Steven-Johnson, e tossicità epatica che determina un rialzo delle transaminasi e nei casi più gravi un'insufficienza epatica acuta (Pau & George, 2014). L'utilizzo di un NNRTI associato a due NRTI rappresenta uno dei trattamenti di prima linea da utilizzare nel paziente affetto da HIV.

NEVIRAPINA ED EFAVIRENZ

Nevirapina ed efavirenz sono inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa dell'HIV-1. Sono stati approvati per l'uso in combinazione con gli analoghi nucleosidici per il trattamento degli adulti infettati dal virus dell'HIV-1. Sono disponibili coformulazioni che includono efavirenz o nevirapina. Sono attivi in concentrazioni nanomolari e sono anche molto selettivi per la trascrittasi inversa dell'HIV-1, ma non dimostrano attività verso l'HIV-2; se usati in monoterapia, sono associati al rapido sviluppo di mutanti farmaco-resistenti. L'efavirenz è somministrato una volta al giorno alla dose di 600 mg, mentre la nevirapina due volte al giorno alla dose di 200 mg. L'efavirenz può danneggiare il feto quando somministrato durante il primo trimestre di gravidanza, quindi, le donne in età riproduttiva devono essere sottoposte ad un test di gravidanza prima di iniziare l'efavirenz. Il farmaco è utilizzato comunemente in combinazione con due analoghi nucleosidici come parte di un regime terapeutico iniziale. Infine, per quanto riguarda le interazioni farmacologiche, va segnalato il ruolo di induttore del sistema del citocromo P450 svolto dalla nevirapina e quello sia di induttore che di inibitore svolto da efavirenz.

DELAVIRDINA

La delavirdina è stata approvata nel 1997. Dal punto di vista farmacocinetico si caratterizza per essere un inibitore del citocromo P450 e la posologia consigliata è di 400 mg tre volte al giorno. La sua efficacia si è dimostrata inferiore ad altre molecole di questa classe (come ad esempio l'efavirenz) e questo, associato alla necessità di assunzione tre volte al giorno, ha fatto sì che questo farmaco venga attualmente raramente prescritto.

ETRAVIRINA

L'etravirina è un derivato diarilpirimidinico che è attualmente disponibile mediante un programma di accesso allargato per il trattamento dell'infezione da HIV in combinazione con altri agenti. Diversamente dagli altri inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa, che mostrano tutti cross-resistenza,

l'etravirina può essere attiva contro ceppi di HIV che sono resistenti agli altri inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa. La posologia è di 200 mg ogni 12 ore.

RIPILVIRINA

La ripilvirina è un NNRTI di seconda generazione disponibile come singolo farmaco di 25 mg o in regimi a unica compressa associata con emtricitabina e TDF, emtricitabina e TAF, o dolutegravir. Visto l'eccessivo rischio di fallimento nel controllo virologico, la ripilvirina non dovrebbe essere somministrata in un paziente con una conta dei CD4 inferiore a 200/mm^3 o con una carica virale superiore a 100.000 copie/ml. L'assorbimento avviene a pH acido, per cui la concomitante assunzione di inibitori di pompa protonica è controindica. Sono controindicati anche i farmaci forti induttori di CYP3A4 visto che la ripilvirina è metabolizzata da questo enzima. Un effetto collaterale frequente di questo farmaco è l'allungamento del QT di circa 2 ms.

DORAVIRINA

La doravirina è il più recente farmaco di seconda generazione dei NNRTI, vista la sua approvazione in agosto 2018. Viene somministrato al dosaggio di 100 mg una volta al giorno e fa anche parte di un regime a singolo farmaco associato con lamivudina e tenofovir disoproxil. Viene metabolizzato da CYP3A4, per cui non dovrebbe essere co-somministrato con forti induttori di questo enzima. Non può essere preso a stomaco vuoto.

2.2.3 Inibitori delle proteasi

Come molti altri virus, anche HIV sintetizza molte delle proprie proteine sotto forma di un unico lungo filamento nel quale le varie proteine strutturali sono legate in sequenza una dopo l'altra. L'HIV proteasi ha il compito di tagliare questa lunga "poliproteina" in frammenti che diano luogo, successivamente, alle proteine virali funzionali.

Interferendo, quindi, con questo fondamentale processo enzimatico, gli inibitori della proteasi di HIV-1 (saquinavir, indinavir, ritonavir, nelfinavir, amprenavir, fosamprenavir, lopinavir/ritonavir, atazanavir, tipranavir e darunavir) rappresentano, di fatto, una componente molto importante dell'armamentario terapeutico antiretrovirale. Quando usati nei regimi iniziali, in combinazione con gli inibitori della trascrittasi inversa, questi farmaci hanno dimostrato di essere in grado di sopprimere i livelli di replicazione dell'HIV al di sotto delle 50 copie/ml nella maggior parte dei pazienti, per un minimo di 5 anni. Come nel caso degli inibitori della trascrittasi inversa, la resistenza agli inibitori della proteasi può svilupparsi rapidamente nel corso di una monoterapia; pertanto, questi farmaci dovrebbero essere usati in regimi di combinazione terapeutica.

SAQUINAVIR

Il saquinavir è stato il primo degli inibitori della proteasi di HIV-1 ad essere approvato. Tipicamente viene somministrato assieme a basse dosi di ritonavir per ottenere concentrazioni plasmatiche nel range terapeutico. Il saquinavir è metabolizzato dal sistema del citocromo P450 nel sistema gastrointestinale e nel fegato. Basse dosi di ritonavir causano una inibizione dell'azione del citocromo P450. Perciò, la somministrazione contemporanea di entrambi i farmaci causa un potenziale incremento dei livelli di saquinavir. L'uso a basse dosi di ritonavir per produrre un'accelerazione farmacodinamica di altri farmaci è diventata una pratica relativamente comune nella strategia terapeutica contro l'HIV. Il saquinavir è, probabilmente, l'inibitore della proteasi meglio tollerato. La posologia raccomandata è di 1000 mg in combinazione con 100 mg di ritonavir ogni 12 ore.

RITONAVIR

Il ritonavir è stato il primo inibitore delle proteasi del quale è stata dimostrata l'efficacia clinica. La posologia consigliata è di 600 mg ogni 12 ore, ma a pieno dosaggio questo farmaco risulta essere poco tollerato. Il ritonavir, infatti, ha un'alta affinità per diverse isoforme del citocromo P450 ed il suo uso può

determinare un massiccio incremento delle concentrazioni plasmatiche dei farmaci metabolizzati da questo citocromo. Tra i farmaci che risentono maggiormente di questo effetto troviamo la maggior parte degli altri inibitori delle proteasi, macrolidi, warfarin, ondasentron, rifabutina, molti calcio-antagonisti, glucocorticoidi ed alcuni agenti chemioterapici utilizzati nel trattamento del sarcoma di Kaposi e dei linfomi. In aggiunta, il ritonavir può aumentare l'attività della glucuroniltransferasi, determinando una diminuzione dei livelli plasmatici dei farmaci metabolizzati in questa via metabolica. Pertanto, deve essere prestata grande attenzione nel prescrivere farmaci aggiuntivi ai pazienti in terapia con inibitori della proteasi in generale e con ritonavir in particolare. Come già detto, le proprietà del ritonavir di determinare una accelerazione farmacodinamica (osservata anche a basse dosi, ad esempio, 100/200 mg ogni 12 ore) è spesso utilizzata nei pazienti infetti da HIV per instaurare regimi terapeutici antiretrovirali più vantaggiosi.

INDINAVIR

Tra gli inibitori della proteasi, l'indinavir è quello meglio studiato. È stato il primo farmaco di questa famiglia ad essere usato in combinazione con due farmaci analoghi nucleosidici. La combinazione di zidovudina, lamivudina ed indinavir è stata la prima "triplice terapia combinata" che ha dimostrato una marcata attività contro la replicazione dell'HIV. La posologia raccomandata è di 800 mg ogni 8 ore oppure 800 mg ogni 12 ore (se utilizzato in combinazione con 100 mg di ritonavir) oppure 1000 mg ogni 8 ore (se utilizzato con efavirenz o nevirapina). L'indinavir è metabolizzato prevalentemente a livello epatico, quindi, la dose deve essere ridotta in pazienti con cirrosi. I livelli plasmatici di indinavir risultano diminuiti nel corso di una terapia concomitante con rifabutina o nevirapina ed aumentati durante una terapia concomitante con chetoconazolo, delavirdina, efavirenz o ritonavir. In queste circostanze, pertanto, i dosaggi devono essere modificati in modo appropriato.

NELFINAVIR ED AMPRENAVIR

Il nelfinavir è stato approvato nel 1997, mentre l'amprenavir è stato approvato nel 1999 per il trattamento dell'infezione da HIV dell'adulto e del bambino, quando è indicata una terapia antiretrovirale. Come con la maggior parte dei più recenti agenti antiretrovirali, l'approvazione è avvenuta basandosi su studi clinici controllati e randomizzati che hanno dimostrato la diminuzione dei livelli plasmatici di HIV-RNA e l'incremento della conta dei linfociti T CD4+ helper. La presenza dell'etil-metansulfonato, potenzialmente cancerogeno e teratogeno, nelle preparazioni di nelfinavir rende questo farmaco sconsigliato in gravidanza. Per quanto riguarda la posologia, il nelfavir richiede un dosaggio di 750 mg ogni 8 ore oppure di 1250 mg ogni 12 ore; l'amprenavir, invece, richiede un dosaggio di 1200 mg ogni 12 ore oppure di 600 mg ogni 12 ore (se utilizzato in combinazione con 100 mg di ritonavir) oppure di 1200 mg al giorno (se utilizzato in combinazione con 200 mg di ritonavir). L'amprenavir è stato attualmente sostituito dal fosamprenavir.

FOSAMPRENAVIR

Il fosamprenavir è stato approvato nel 2003 per il trattamento dell'infezione da HIV in combinazione con altri agenti antiretrovirali negli adulti. È un profarmaco dell'amprenavir che viene rapidamente convertito in amprenavir dalle fosfatasi cellulari. Viene commercializzato in compresse da 700 mg. Il dosaggio raccomandato è di 1400 mg ogni 12 ore oppure di 700 mg ogni 12 ore (se utilizzato in combinazione con 100 mg di ritonavir) oppure di 1400 mg al giorno (se utilizzato in combinazione con 200 mg di ritonavir). Il fosamprenavir con ritonavir si è dimostrato comparabile a lopinavir/ritonavir ad efavirenz in regimi di combinazione.

LOPINAVIR/RITONAVIR

Lopinavir/ritonavir è una combinazione a dose fissa degli inibitori della proteasi lopinavir (200 mg) e ritonavir (50 mg) da assumere ogni 12 ore. È stato approvato nel 2000 per il trattamento dell'infezione da HIV-1 in adulti e bambini in

combinazione con altri agenti. Uno dei principali vantaggi di questo farmaco è che associa in un'unica compressa il potenziamento farmacologico del ritonavir a bassa dose ad un secondo inibitore della proteasi.

ATAZANAVIR

L'atazanavir è un inibitore azapeptide della proteasi di HIV-1 che è stato approvato nel 2003. Il vantaggio di questo farmaco è che i livelli di colesterolo totale e trigliceridi non aumentano così tanto come con gli altri inibitori della proteasi. Questo, assieme al fatto che può essere somministrato una sola volta al giorno al dosaggio di 400 mg oppure di 300 mg (se utilizzato in combinazione con 100 mg di ritonavir ed efavirenz), ha reso l'atazanavir un componente molto usato nei regimi di trattamento iniziale. L'atazanavir necessita un pH gastrico acido per l'assorbimento ed il suo uso in combinazione con un inibitore della pompa protonica è controindicato per via del rischio di un ridotto assorbimento. L'atazanavir è un inibitore del citocromo P3A ed il suo utilizzo può essere associato ad un aumento dei livelli di calcio-antagonisti, macrolidi, inibitori dell'HMB-CoA reduttasi e sildenafil. I livelli di atazanavir sono più bassi in presenza di tenofovir ed efavirenz. In questi casi i livelli di atazanavir dovrebbero essere incrementati con l'uso di ritonavir a basse dosi.

TIPRANAVIR

Il tipranavir è un inibitore non peptidico della proteasi di HIV approvato nel 2005. La posologia consigliata è di 500 mg ogni 12 ore in combinazione con 200 mg di ritonavir e trova indicazione nella terapia antiretrovirale di combinazione dell'infezione di HIV-1 in adulti pretrattati oppure in adulti con evidenza di ceppi di HIV multiresistenti agli inibitori della proteasi. Il tipranavir è risultato inferiore a lopinavir/ritonavir in uno studio randomizzato controllato condotto in pazienti senza precedente trattamento.

DARUNAVIR

Il darunavir è un inibitore della proteasi non peptidico approvato nel 2006 per il trattamento dell'infezione da HIV in adulti pretrattati. La posologia raccomandata è di 600 mg ogni 12 ore in combinazione con 100 mg di ritonavir a stomaco pieno.

2.2.4 Inibitori delle integrasi

Insieme alla trascrittasi inversa ed alla proteasi, l'integrasi è uno dei tre enzimi necessari alla riproduzione ed alla propagazione del virus dell'HIV all'interno delle cellule infettate. Il suo ruolo, infatti, consiste nel garantire lo strand-transfer di integrazione, ovvero il trasferimento del DNA virale nel cromosoma dell'ospite, elemento essenziale del ciclo di replicazione del virus. Il processo avviene in tre fasi: formazione di un complesso di DNA virale pre-integrazione; trasformazione; strand-transfer.

Gli inibitori dell'integrasi sono in grado, pertanto, di arrestare la replicazione e la diffusione del virus dell'HIV. Questi farmaci, tra l'altro, sono molto specifici e selettivi poiché permettono di colpire un enzima che normalmente non è presente nell'ospite, e cioè, l'integrasi.

Come con la maggior parte degli agenti antiretrovirali, il fallimento della terapia è generalmente associato alla comparsa di mutazioni nella regione integrasi del genoma virale.

RALTEGRAVIR

Raltegravir inibisce l'enzima virale integrasi, interagendo con cationi bivalenti del nucleo catalitico della integrasi, ed è il primo farmaco di questa classe ad essere stato approvato. Autorizzato nel 2007 per il trattamento dell'infezione da HIV in combinazione con altri agenti in pazienti pretrattati, Il raltegravir mostra un ampio range di attività contro HIV-1 e HIV-2, inclusi i virus con multiple mutazioni di resistenza ai farmaci di altre classi, dimostrando efficacia in ogni gruppo di pazienti, anche quelli con fattori prognostici tradizionalmente sfavorevoli, come

l'elevata carica virale di RNA-HIV o bassa conta CD4+ all'inizio della terapia. La posologia consigliata è di 400 mg ogni 12 ore.

DOLUTEGRAVIR

Dolutegravir è un inibitore dell'integrasi e si lega al sito attivo dell'enzima bloccando la fase di strand transfer. Trova indicazione nel trattamento dell'infezione da HIV in combinazione con altri agenti antiretrovirali in adulti, adolescenti e bambini con età superiore ai 6 anni. Può essere utilizzato nei pazienti naïve e nei pazienti in fallimento virologico trattati con altre classi di farmaci. La posologia raccomandata è di 50 mg al giorno.

ELVITEGAVIR

Elvitegravir è un inibitore dell'attività di strand transfer dell'integrasi dell'HIV-1 e, proprio come Raltegravir e Dolutegravir, previene l'integrazione dell'acido desossiribonucleico dell'HIV nel DNA genomico dell'ospite, bloccando la formazione del provirus HIV e la propagazione dell'infezione virale. Il farmaco è metabolizzato principalmente da CYP3A e la sua emivita è ridotta, pertanto, è necessaria la somministrazione concomitante con un inibitore selettivo degli enzimi del citocromo P450 della sottofamiglia CYP3A, come il Cobicistat, con il quale si trova associato in due formulazioni, che ne aumenta, quindi, la sua esposizione sistemica.

BICTEGRAVIR

Bictegravir è il più recente inibitore dell'integrasi ad essere stato approvato (nel 2018) ed è attualmente disponibile solo in associazione con emtricitabina e tenofovir alafenamide fumarato (Biktarvy). Viene principalmente metabolizzato da UGT1A1 e solo parzialmente da CYP3A4, inoltre inibisce OCT2 e MATE1 causando un aumento della creatinina sierica. Può essere assunto sia a stomaco vuoto che a stomaco pieno. Vista l'alta difficoltà allo sviluppo di resistenze nei suoi confronti, la sua disponibilità ad essere usato in associazione con uno dei "backbone" più efficaci (TAF ed emtricitabina) e le ridotte interazioni

farmacologiche, bictegravir rappresenta oggi una delle scelte più frequenti per una terapia di prima linea.

2.2.5 Inibitori di ingresso

Gli inibitori di ingresso agiscono a livello extracellulare, interferendo con il legame tra HIV ed il suo recettore/co-recettore oppure interferendo con il processo di fusione. Il primo farmaco di questa classe ad essere stato approvato è stato l'inibitore della fusione enfuvirtide, seguito dall'antagonista del CCR5 maraviroc. Numerose altre piccole molecole che legano i co-recettori per HIV-1 sono attualmente in fase di studio od in attesa di approvazione.

ENFUVIRTIDE

L'enfuvirtide è un peptide sintetico lineare di 36 aminoacidi con l'estremità N-terminale acetilata ed un carbossiamide all'estremità C-terminale. È composto da residui L-amminoacidici naturali ed interferisce con la fusione tra il virus e la membrana cellulare legando la regione HR1 della sub unità gp41 della membrana di HIV-1. Questo legame interferisce con l'interazione tra le eliche proteiche richiesta per avvicinare le due membrane. Tra gli svantaggi di questo farmaco vi è la necessità di eseguire un'iniezione sottocutanea due volte al giorno al dosaggio di 90 mg.

MARAVIROC

Il maraviroc è un antagonista del CCR5 che interferisce con il legame di HIV a livello dell'impegno del co-recettore. È stato approvato nel 2007 per il trattamento dell'infezione da HIV in combinazione con altri agenti in pazienti pretrattati infettati solo con virus CCR5-tropici multiresistenti. Se si ipotizza l'uso di maraviroc dev'essere effettuato un test del tropismo per il co-recettore per garantire che nel potenziale pazienti alberghi un virus R5. Il maraviroc è un substrato di CYP3A e PgP e la dose raccomandata varia a seconda dei farmaci concomitanti. In combinazione con analoghi nucleosidici, tipranavir/ritonavir, enfuvirtide e/o nevirapina, la dose è di 300 mg due volte al giorno; in presenza degli inibitori di CYP3A, come la

maggior parte degli inibitori della proteasi, la dose è di 150 mg due volte al giorno; in presenza di induttori di CYP3A come efavirenz, invece, la dose è di 600 mg due volte al giorno.

2.2.6 Booster

I booster sono farmaci utilizzati in qualità di potenziatori farmacocinetici la cui azione consiste nell'inibire l'enzima CYP3A4, responsabile della metabolizzazione di diversi farmaci, compresi alcuni antiretrovirali. Quando usati in un regime di combinazione, essi determinano di conseguenza un aumento della concentrazione plasmatica di alcuni farmaci antiretrovirali che possono essere quindi somministrati a dosaggi minori e con minor frequenza, massimizzandone gli effetti benefici. I booster attualmente in uso sono ritonavir e cobicistat.

RITONAVIR

Ritonavir è stato originalmente sviluppato nel 1996 come un inibitore delle proteasi, ma visti i suoi effetti collaterali, soprattutto a livello gastrointestinale, le sue interazioni farmacologiche e la sua necessità di essere assunto ad alto dosaggio, non è più usato come antiretrovirale. Grazie alla capacità di inibire CYP3A4, anche a basse dosi, lo si può utilizzare come booster per altri inibitori delle proteasi al dosaggio di 100 mg da assumere una o due volte al giorno.

COBICISTAT

Cobicistat è un analogo strutturale del ritonavir sviluppato specificatamente per agire da booster farmacocinetico senza nessuna attività antiretrovirale. Come ritonavir, anche cobicistat è un importante inibitore del citocromo CYP3A4. È stato approvato nel 2012 ed è attualmente co-somministrato con gli inibitori delle proteasi darunavir e atazanavir o con l'inibitore delle integrasi elvitegravir. La somministrazione di una singola dose giornaliera di 150 mg di cobicistat ha dimostrato un effetto comparabile a quello ottenuto con la somministrazione di 100 mg giornalieri di ritonavir.

2.3 L'approccio farmacologico nel paziente HIV+

L'eradicazione dell'HIV non può essere ottenuta con l'attuale terapia antiretrovirale, vista la presenza di infezione latente che si stabilisce in alcuni linfociti T CD4+ durante le fasi inziali dell'infezione. In ogni caso, la terapia antiretrovirale è fondamentale per il paziente in quanto in grado di ridurre la mortalità associata all'HIV, prolungare la sopravvivenza e prevenire la trasmissione dell'infezione (Cihlar & Fordyce, 2016).

Nel corso degli anni le linee guida per il trattamento dell'infezione si sono modificate notevolmente, non solo per quanto riguarda i farmaci da utilizzare ma anche e soprattutto per il momento in cui cominciare la terapia. Sebbene già nel 1995 alcuni studi affermassero l'utilità nel cominciare la terapia immediatamente, come lo studio "*Time to hit HIV, early and hard*" di David Ho, pubblicato sul New England Journal of Medicine (David D. Ho, 2013), fino al 2010 le linee guida internazionali raccomandavano di non cominciare il trattamento finché il numero dei linfociti CD4 non fosse sceso al di sotto dei 350/mm^3 (Arts & Hazuda, 2012). Negli anni successivi alcuni studi, come lo studio START, hanno invece dimostrato come i pazienti avessero dei netti benefici nell'iniziare immediatamente il trattamento, per cui oggigiorno l'indicazione è quella di cominciare la terapia subito dopo la diagnosi di infezione senza andare a considerare il numero dei CD4 (Lundgren et al., 2015).

La terapia di attacco prevede l'utilizzo di due inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa (NRTI) più un terzo farmaco proveniente da una differente classe, come un inibitore delle proteasi (PI), un inibitore non nucleosidico della trascrittasi inversa (NNRTI) o un inibitore dell'integrasi (INI). Le linee guida americane ed europee hanno cominciato ad enfatizzare l'utilizzo soprattutto degli inibitori degli integrasi per la terapia di combinazione, vista la loro efficacia, l'elevata sicurezza e il profilo di tollerabilità.

Per valutare l'efficacia del trattamento si deve andare a monitorare l'HIV RNA (viremia), che deve mantenersi al di sotto delle 50 copie/ml e il numero dei linfociti T CD4+ helper che deve portarsi, invece, il più vicino possibile ai valori normali (v.n. 900-1200 mmc). La viremia dovrebbe essere controllata ogni 4-6 settimane fino al raggiungimento della soppressione virologica, che avviene circa 24 settimane dopo l'inizio della terapia; successivamente è sufficiente effettuare un controllo ogni 3-6 mesi. Allo stesso modo per i CD4 è sufficiente effettuare un controllo ogni 3-6 mesi dopo che si è raggiunto il controllo della viremia (Günthard et al., 2016).

Il limite principale della terapia antiretrovirale di combinazione è la necessità di dover essere continuato a tempo indefinito ed è probabile che, per motivi differenti (tossicità, invecchiamento, comorbilità, prevenzione di danni d'organo, interazioni farmacologiche, ridotta aderenza), nel corso degli anni si rendano opportune, anche in assenza di fallimento virologico, modifiche al regime in atto.

I regimi antiretrovirali di combinazione possono essere, quindi, forieri di effetti collaterali, tossicità, interazioni farmacologiche, selezione di resistenze e difficoltà di aderenza da parte dei pazienti. Per questo motivo, onde evitare o quantomeno ridurre gli aspetti di cui sopra, è necessaria la continua interazione con il paziente e il suo coinvolgimento nelle scelte terapeutiche.

Proprio per ridurre la tossicità e migliorare la compliance, durante la terapia di mantenimento, se si è riusciti a controllare efficacemente l'infezione, è possibile effettuare una semplificazione della terapia. Questa può essere ottenuta tramite una riduzione del numero dei farmaci (passando quindi a una duplice o una monoterapia), una riduzione delle dosi o una riduzione della frequenza di somministrazione. Per esempio, durante la terapia di mantenimento, una terapia di combinazione contenente un inibitore delle proteasi associata a lamivudina, ha dimostrato di avere non solo un'efficacia equivalente, ma in alcuni casi superiore, rispetto a una terapia di mantenimento basata su tre farmaci. Altre formulazioni sono attualmente disponibili e vengono comunemente impiegate nella pratica

clinica, come associazioni fra dolutegravir e ripilvirina o raltegravir ed etravirina (Ghosn et al., 2018).

Capitolo 3: ALTERAZIONI DEL PROFILO METABOLICO NEL PAZIENTE SIEROPOSITIVO

Grazie alla terapia antiretrovirale i pazienti con infezione da HIV vivono più a lungo, tanto che si può affermare che l'utilizzo di questo trattamento abbia trasformato l'HIV in una patologia cronica, con un numero sempre maggiore di pazienti che raggiunge l'età anziana. Come conseguenza di questo miglior controllo virologico e quest'aumentata aspettativa di vita, è cambiato lo spettro di morbilità associate a questa patologia, passando da infezioni opportunistiche e disfunzioni immunitarie che si avevano precedentemente a complicazioni metaboliche che si verificano più frequentemente oggigiorno. Gli studi dimostrano che i pazienti sieropositivi vanno infatti incontro ad un aumentato rischio metabolico, comprendente, ad esempio, dislipidemie, aterosclerosi subclinica e resistenza insulinica (Srinivasa & Grinspoon, 2014).

3.1 Eziopatogenesi delle alterazioni metaboliche

L'eziologia delle complicazioni metaboliche che si verificano in questa categoria di pazienti non può essere completamente definita, anche se probabilmente è di origine multifattoriale, in quanto diversi fattori interagiscono fra di loro per indurre queste alterazioni. Fra questi includiamo l'invecchiamento della popolazione sieropositiva, la presenza di processi infiammatori cronici sottostanti e l'uso cronico di farmaci antiretrovirali. In particolare diverse classi di farmaci antiretrovirali, come gli inibitori delle proteasi e gli inibitori della trascrittasi inversa, sono stati associati ad alterazioni della distribuzione del grasso corporeo e dell'omeostasi lipidica e glucidica (Bourgi et al., 2018).

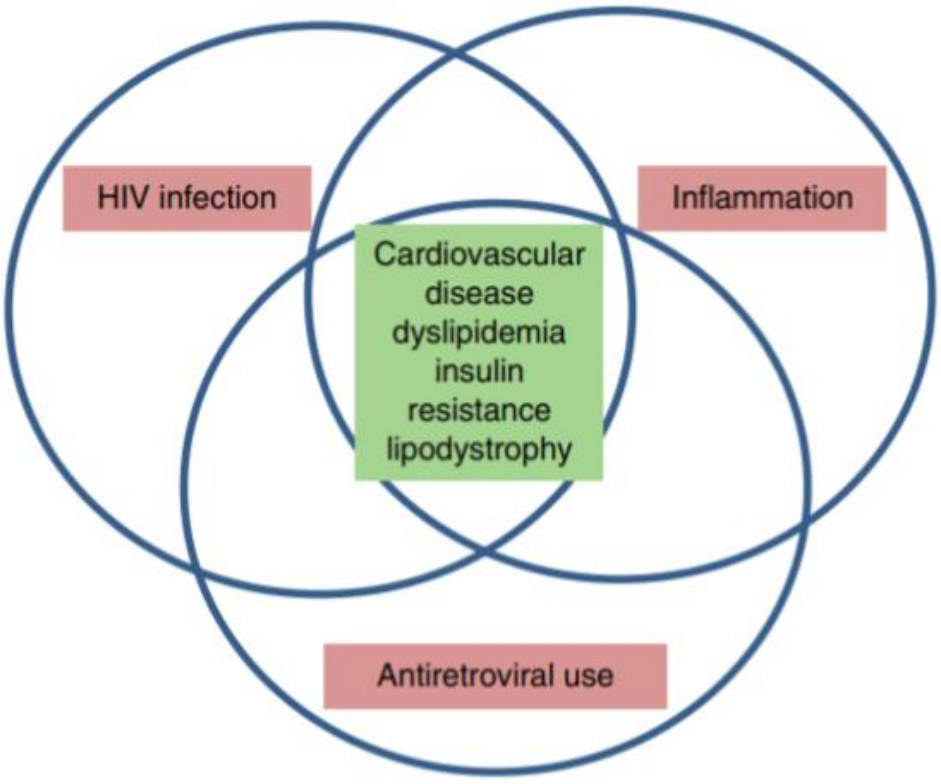


Figura 12. Meccanismi coinvolti nella patogenesi delle alterazioni metaboliche

3.1.1. L'invecchiamento dei pazienti HIV positivi

Negli ultimi anni si è assistito ad un aumento importante dell'aspettativa di vita nei pazienti sieropositivi. Nonostante ci possano essere diversi fattori che hanno contribuito a questo risultato, l'inizio precoce del trattamento e il potenziamento della terapia antiretrovirale hanno sicuramente avuto un ruolo predominante.

In una review del 2016 si sono confrontati 10 studi provenienti da diversi paesi del mondo (Canada, Regno Unito, Ruanda, Sudafrica e Uganda) riguardanti l'aspettativa di vita attuale dei pazienti con infezione da HIV. Tutti confermavano l'allungamento della vita media, sebbene ci siano ancora delle grosse differenze fra le diverse regioni del mondo (Wandeler et al., 2016).

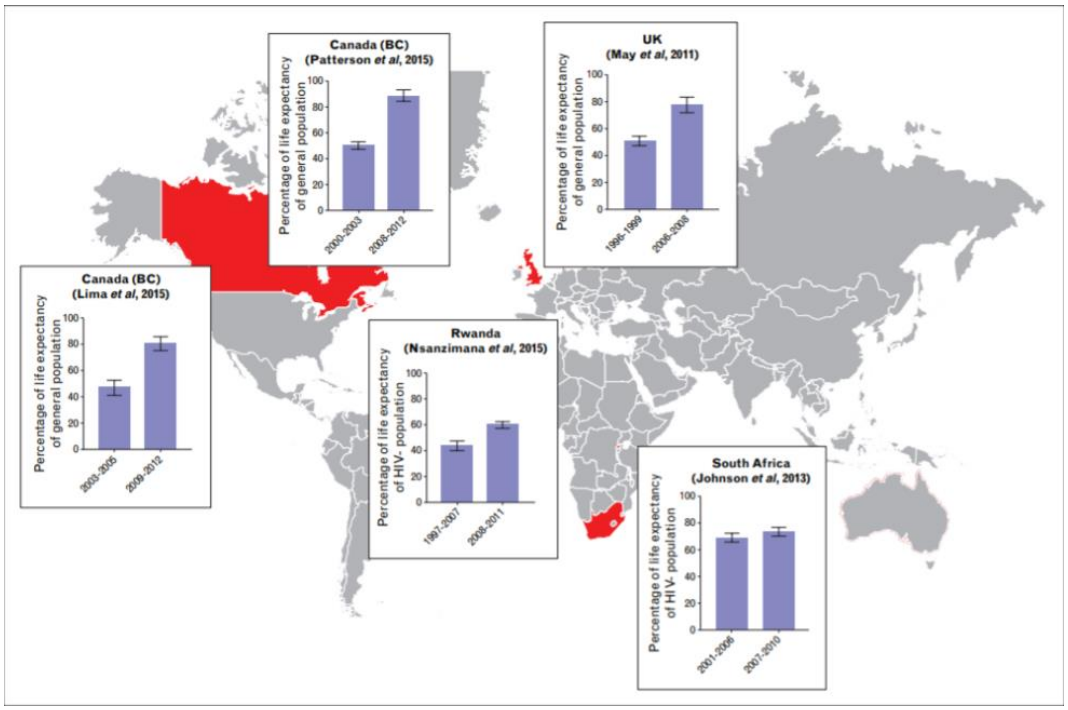


Figura 13. Aspettativa di vita dei pazienti HIV+ all'età di 20 anni che iniziano la terapia antiretrovirale: confronto fra il periodo attuale e lo scorso decennio

L'invecchiamento della popolazione HIV positiva ha fatto sì che questi pazienti sviluppassero un numero sempre maggiore di quelle patologie "age-related", come patologie cardiovascolari, patologie renali croniche, ipertensione, diabete mellito, dislipidemie, patologie polmonari croniche, tumori, osteoartriti, osteoporosi e deficit neurologici. Inoltre, se confrontiamo questi pazienti con

persone senza infezione da HIV della stessa età, vediamo come mediamente ci sia un numero maggiore di comorbidità (Marzolini & Livio, 2019). Questo è connesso con il fatto che questi pazienti presentano anche un invecchiamento accelerato dovuto alla cronica attivazione del sistema immunitario che porta ad un esaurimento immunologico ed una precoce immunosenescenza, anche quando si ottiene un ottimale controllo viro-immunologico (Jiménez et al., 2018). L'invecchiamento accelerato non solo aumenta la probabilità di sviluppare comorbidità, ma riduce la capacità di esercizio, la performance funzionale e in totale è responsabile dell'aumentata fragilità di questi pazienti (Effros et al., 2008).

3.1.2 Processi infiammatori

La somministrazione della terapia antiretrovirale risulta efficace nel bloccare la replicazione virale, ma non riesce ad eliminare completamente l'infiammazione associata all'infezione da HIV. Questo determina la persistenza di uno stato infiammatorio cronico, specialmente a livello intestinale e del tessuto linfoide, dove il virus persiste.

I pazienti sieropositivi presentano, in virtù di questo stato infiammatorio cronico, una produzione aberrante di citochine pro-infiammatorie, come TNF-α, IL-1b, IL-6 e IL-18, e di chemochine, come IL-8, CCL2, IP10. L'infezione è anche associata ad aumentati livelli nel plasma di marker infiammatori solubili come CD40L, CD14, CD163, D-dimero, e proteina C reattiva (PCR). Queste proteine di fase acuta sono prodotte da differenti cellule in risposta all'attivazione dei macrofagi e sono considerate come dei bio-marker aggiuntivi di infiammazione. Infine, l'infezione da HIV va anche precocemente a danneggiare il microbiota intestinale portando al rilascio di alcuni prodotti batterici come LPS (o lipopolisaccaride, uno dei componenti della membrana cellulare batterica) nel flusso sanguigno e nel tessuto linfoide, che contribuiscono ulteriormente allo sviluppo dell'infiammazione sistemica (Aounallah et al., 2016).

Diversi studi hanno correlato la presenza di questo stato infiammatorio cronico e l'aumentata produzione di citochine con le alterazioni metaboliche presenti nel paziente con infezione da HIV. In particolare, l'elevato rilascio di alcune citochine come TNF-α, IL-6 e IL-8 determina lo sviluppo di un insulino-resistenza nei tessuti periferici associata ad una iperinsulinemia ed iperglicemia sistemiche (Limone et al., 2003); mentre gli elevati livelli di LPS determinano un aumento dei trigliceridi, delle LDL, una minore sensibilità all'insulina e un maggior rischio di eventi cardiovascolari come infarto del miocardio (Pedersen et al., 2013).

3.1.3 Tossicità dei farmaci antiretrovirali

Una delle sfide più difficili nel trattamento dell'HIV è rappresentata dalla gestione degli effetti collaterali dei farmaci antiretrovirali, che possono limitare l'aderenza del paziente sieropositivo e, di conseguenza, i benefici che questo può ottenere da una corretta terapia (Browne et al., 2019). Ogni classe di antiretrovirali presenta delle tossicità comuni a tutti (o comunque alla maggior parte) i farmaci di quella categoria, a questo si possono aggiungere degli effetti collaterali specifici e caratteristici del singolo farmaco. A complicare questo problema è il fatto che la terapia antiretrovirale prevede l'uso di combinazioni di almeno tre farmaci e quindi le singole tossicità si possono andare a sommare (Shibuyama et al., 2006). La maggior parte degli effetti collaterali è comunque di lieve entità, si verifica nelle prime settimane di terapia e tende ad autorisolversi in breve tempo. Altri invece, tendono a comparire più tardivamente come conseguenza di alterazioni del metabolismo e possono essere anche di entità moderata o severa. Di conseguenza possiamo classificare gli eventi avversi in eventi avversi precoci, che si verificano nei primi giorni o nelle prime settimane di terapia, ed eventi avversi a insorgenza tardiva, che si verificano mesi o anni dopo l'inizio del regime terapeutico.

Gli eventi avversi precoci possono colpire diversi organi e comprendono secchezza cutanea e delle mucose, alopecia, perionissi, rush cutanei, reazioni di ipersensibilità, nausea, vomito, diarrea, tossicità epatica che può portare a epatiti

fino all'epatite fulminante, mialgia, astenia, osteopenia, osteoporosi, nefrolitiasi, insufficienza renale, pancreatiti, cefalea, vertigini e insonnia.

Gli effetti collaterali tardivi, che sono quelli che interessano maggiormente questo studio, comprendono alterazioni della distribuzione del grasso corporeo, del metabolismo lipidico, glucidico e la possibile insorgenza della sindrome lipodistrofica.

I farmaci che sono maggiormente coinvolti nelle alterazioni metaboliche sono principalmente i NRTI e gli inibitori delle proteasi (PI). È stato dimostrato che i NRTI determinano tossicità mitocondriale andando ad inibire la DNA-polimerasi gamma mitocondriale determinando una alterazione del DNA mitocondriale (mtDNA) e un aumento dello stress ossidativo. Visto il ruolo esercitato dai mitocondri nell'ossidazione lipidica è chiaro come una disfunzione mitocondriale sia responsabile di importanti alterazioni a livello lipidico, comprendenti dislipidemie, alterazioni di grasso corporeo e lipoatrofia, ovvero una perdita localizzata di tessuto adiposo sottocutaneo. Inoltre, questi farmaci possono anche indurre una fibrosi irreversibile a livello del tessuto adiposo che contribuisce ulteriormente alle alterazioni metaboliche e in particolare sembra essere connessa con una aumentata insulino-resistenza (Lagathu et al., 2019).

Gli inibitori delle proteasi (PI) sono sicuramente la classe di farmaci maggiormente responsabile delle modificazioni metaboliche nel paziente con HIV in terapia cronica. Queste comprendono obesità viscerale/addominale, dislipidemie caratterizzate da aumento importante di trigliceridi, VLDL e LDL e insulino-resistenza e diabete che insorgono de novo o peggiorano nei pazienti già precedentemente affetti. Dal punto di vista fisiopatologico sono stati individuati tre meccanismi responsabili delle alterazioni metaboliche, questi meccanismi non sono comunque mutualmente esclusivi andando parzialmente a sovrapporsi.

La prima alterazione coinvolge lo "*sterol regulatory element-binding protein*" o SREBP, un regolatore della trascrizione presente a livello del reticolo

endoplasmatico e che è presente nelle cellule adipose e negli epatociti. Negli adipociti è coinvolto nell'aumento dell'assorbimento degli acidi grassi e la sintesi di acidi grassi a partire dai carboidrati, nell'inibire la lipolisi e aumentare l'assorbimento e l'utilizzo di glucosio come substrato energetico. È stato dimostrato che gli inibitori delle proteasi alterano il trasporto di questo fattore di trascrizione a livello nucleare determinando una alterazione della sua funzione e, di conseguenza, delle alterazioni a livello metabolico. Gli altri due meccanismi prevedono l'inibizione dell'*Insulin-Sensitive Glucose Transporter-4* o GLUT4, che riduce negli adipociti e nelle cellule del muscolo scheletrico l'assorbimento di glucosio e la sensibilità all'insulina, e l'inibizione del proteasoma che a livello epatico determina una aumentata produzione di trigliceridi, di VLDL e dell'apolipoproteina B (Nolan, 2003).

3.2 Le complicanze metaboliche

Come già precedentemente discusso, sono diverse le alterazioni metaboliche del paziente con infezione cronica da HIV. In questo studio quelle che interessano maggiormente e, di conseguenza, quelle su cui ci si concentra di più sono le alterazioni del profilo lipidico, del profilo glucidico, della funzionalità epatica e della funzionalità renale.

3.2.1 Alterazioni del metabolismo lipidico

È possibile riscontrare una condizione di dislipidemia in più del 50% dei pazienti con HIV, mentre se si considerano i pazienti che fanno terapia con inibitori delle proteasi la percentuale sale fino all'80%. Queste alterazioni comprendono un aumento dei trigliceridi, del colesterolo totale, delle VLDL, LDL e una riduzione delle HDL. Questo si traduce in un processo accelerato di aterosclerosi e di conseguenza un aumentato rischio di malattie cardiovascolari che possono interessare fino al 25% dei pazienti sieropositivi (Mirza et al., 2018).

Questi pazienti possono anche sviluppare lipodistrofia, ovvero una complessa sindrome in cui è possibile riscontrare lipoatrofia sottocutanea e lipoipertrofia centrale. Questa condizione, non nota prima dell'introduzione della terapia antiretrovirale, è stata descritta per la prima volta nel 1998 ed è caratterizzata dalla presenza di un cuscinetto adiposo a livello dorso-cervicale, noto come gobba di bufalo, un aumento della circonferenza addominale e delle dimensioni delle mammelle, lipoatrofia del grasso sottocutaneo a livello facciale, delle natiche e degli arti. Complessivamente, la prevalenza di almeno una anormalità fisica connessa con la sindrome lipodistrofica si pensa sia presente in circa il 50% dei pazienti con infezione da HIV in trattamento con la terapia antiretrovirale, sebbene i casi riportati varino dal 18% all'83%. Questa ampia differenza nelle percentuali potrebbe essere influenzata da età, sesso, etnia, il tipo e la durata della terapia antiretrovirale e soprattutto dalla mancanza di una modalità oggettiva per diagnosticare questa condizione patologica. Inoltre, sembra che lo sviluppo della sindrome lipodistrofica possa precedere lo sviluppo di complicanze metaboliche in questa categoria di pazienti (Giuseppe Barbaro, 2007).

3.2.2 Alterazioni del metabolismo glucidico

L'infezione da HIV si accompagna anche ad alterazioni del metabolismo del glucosio. In questi pazienti è possibile riscontrare una condizione di resistenza insulinica che si associa ad iperglicemia e può portare nel tempo allo sviluppo di diabete mellito di tipo 2. La resistenza insulinica si trova in circa il 46% dei pazienti mentre la prevalenza del diabete mellito di tipo 2 varia dal 2% al 14% a seconda dei diversi criteri utilizzati dai diversi studi e della popolazione presa in esame (Mirza et al., 2018).

Nel 2017 uno studio condotto negli Stati Uniti ha usato i dati degli anni 2009-2010 provenienti dal MMP (o Medical Monitoring Project) e dal National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) per valutare quale fosse la prevalenza del diabete nei pazienti adulti con infezione da HIV negli Usa e comparare la

prevalenza ottenuta con quella della popolazione generale, per confermare se effettivamente i pazienti sieropositivi avessero una maggiore probabilità di sviluppare diabete. La prevalenza riscontrata di diabete nella popolazione infetta è stata del 10.3% contro l'8.3% della popolazione generale, ed i pazienti più colpiti erano quelli con età maggiore di 60 anni, obesi e con l'infezione di più lunga data. Inoltre, dopo aver corretto i dati ottenuti per vari fattori di confondimento come età, sesso, etnia, scolarità, stato socioeconomico, obesità e co-infezione con virus dell'Epatite C (HCV), si è constatato come individui con infezione da HIV avessero una prevalenza di diabete mellito maggiore del 3.8% se comparati con la popolazione generale (Hernandez-Romieu et al., 2017).

Vista l'alta percentuale di pazienti che possono sviluppare diabete, è consigliabile effettuare uno screening soprattutto in quei pazienti che presentano fattori di rischio come obesità, età maggiore ai 60 anni e lunga durata di malattia, in quanto un trattamento precoce potrebbe evitare lo sviluppo di un danno d'organo e quindi prevenire o almeno ritardare l'insorgenza del diabete. Linee guida basate su opinioni di esperti raccomandano la misurazione dei livelli plasmatici di glucosio prima di cominciare la terapia, 3-6 mesi dopo l'inizio della terapia e successivamente almeno una volta all'anno. Sebbene il test da carico orale di glucosio (OGTT) si sia dimostrato più sensibile della misurazione della glicemia nell'individuare pazienti con alterazioni del metabolismo glucidico, quest'ultima è quella presente nelle linee guida in quanto nella pratica clinica è più facilmente eseguibile (Polsky et al., 2011).

3.2.3 Funzionalità epatica

La presenza di danno epatico, testimoniato da un rialzo cronico delle transaminasi, può essere riscontrata nel 20-60% dei pazienti sieropositivi, anche in assenza di co-infezioni con virus dell'epatite B o C; inoltre patologie epatiche sono responsabili di circa il 13% di tutti i decessi dei pazienti con infezione da HIV (Morse et al., 2015).

Le principali alterazioni del fegato che possiamo riscontrare nel paziente sieropositivo sono la steatosi epatica, ovvero l'accumulo di trigliceridi a livello degli epatociti, la steatoepatite e una maggior incidenza di epatocarcinoma. Sebbene alcune malattie epatiche, come la steatoepatite non alcolica (NASH) e la steatosi epatica non alcolica (NAFLD) siano frequentemente osservate nei pazienti sieropositivi, l'uso di farmaci antiretrovirali specifici e la durata della terapia antiretrovirale non sembra essere attualmente correlata con l'insorgenza del danno epatico, ad eccezione della nota epatossicità esercitata dalla didanosina che porta allo sviluppo di una fibrosi epatica severa e proprio in virtù di questo importante effetto collaterale, l'utilizzo della didanosina nella pratica clinica è oggi limitato. L'insorgenza del danno epatico potrebbe essere quindi associata ad altri fattori, come l'associazione tra l'HIV e la sindrome metabolica che determina un aumento della concentrazione dei lipidi e può portare dunque allo sviluppo di steatosi epatica (Srinivasa & Grinspoon, 2014).

Altri fattori di rischio coinvolti nell'insorgenza del danno epatico comprendono l'abuso alcolico e soprattutto co-infezioni HIV/HCV, che secondo studi condotti negli Stati Uniti e in Europa, sono presenti nel 20-25% dei pazienti con infezione da HIV (Sherman et al., 2019).

La presenza di danno epatico può essere diagnosticata mediante test ematici di routine che valutano l'alanina aminotransferasi (ALT), l'aspartato aminotransferasi (AST) e i livelli di bilirubina totale o tramite gli esami strumentali come la tomografica computerizzata (TC). Tuttavia, la scarsa sensibilità e specificità di questi test fa sì che questi non risultano affidabili nel valutare o monitorare la steatosi e la steatoepatite. Proprio per questo motivo il gold standard per identificare l'infiammazione epatica o un danno a livello degli epatociti è ancora rappresentato della biopsia epatica, nonostante questa presenti numerosi svantaggi, tra cui l'elevato costo, l'invasività per il paziente e la possibilità di determinare complicazioni epatiche potenzialmente molto gravi (Gervasoni et al., 2019).

3.2.4 Funzionalità renale

Il danno renale è stato fin da subito identificato come una delle possibili complicanze dell'infezione da HIV. Già nel 1984 alcuni studi avevano evidenziato l'associazione fra questa infezione e la presenza di alterazioni della funzionalità renale, soprattutto dovuta a processi di glomerulosclerosi focale o segmentale. Oggigiorno lo spettro di nefropatie HIV-correlate si è modificato ma continua a rappresentare una delle principali comorbidità e, sebbene l'incidenza di insufficienza renale terminale nei pazienti sieropositivi sia andata incontro a riduzione nel corso del tempo, questi pazienti hanno comunque un rischio maggiore di sviluppare questa condizione rispetto alla popolazione sana. La prevalenza stimata di patologie renali nei pazienti con infezione da HIV attualmente oscilla dal 2.4% al 17% (Bertoldi et al., 2017). Il danno renale sembra essere una diretta conseguenza della formazione di immunocomplessi formati da antigeni virali, come p24 e gp120, e anticorpi. Questi immunocomplessi vanno a depositarsi a livello del glomerulo renale e determinano una massiva apoptosi e una perdita della differenziazione delle cellule renali, in particolare i podociti.

Oltre al danno diretto esercitato dal virus, contribuiscono all'insorgenza delle patologie renali la presenza di comorbidità, come il diabete, eventuali co-infezioni e la tossicità di alcuni farmaci. In particolare, si è visto che l'utilizzo di tenofovir disoproxil fumarato (TDF) aumenta il rischio di sviluppare un'insufficienza renale cronica del 33% e anche l'utilizzo di atazanavir e lopinavir/ritonavir è correlato con una maggior insorgenza di patologia renale cronica (Chawla et al., 2018). Per valutare la funzionalità renale si può effettuare un dosaggio periodico della creatinina sierica.

3.3 Trattamento delle alterazioni metaboliche

Le alterazioni metaboliche rappresentano un importante fattore di morbilità e mortalità nel paziente sieropositivo. La presenza di dislipidemia, insulino-resistenza e le alterazioni del grasso corporeo possono portare allo sviluppo di malattie cardiovascolari che, insieme alle patologie epatiche, rappresentano le principali cause di morte non AIDS-correlate nel paziente con infezione cronica da HIV (Trickey et al., 2016). In uno studio condotto a Londra nel 2016 si è visto come le malattie cardiovascolari fossero responsabili del 17% dei decessi, mentre le malattie epatiche del 9% (Miller et al., 2019).

In base a queste considerazioni, risulta di importanza fondamentale la gestione delle alterazioni metaboliche in questa categoria di pazienti per migliorare la qualità di vita e ridurre la mortalità. Tra le strategie che si possono mettere in atto si hanno il miglioramento dello stile di vita e l'utilizzo di terapie farmacologiche.

3.3.1 Intervento sullo stile di vita

Come nella popolazione non infetta, aderire ad uno stile di vita sano rappresenta il primo step per la prevenzione delle complicanze metaboliche (Benjamin & Bloomfield, 2019). Di fondamentale importanza risulta la modificazione della dieta del paziente, che deve basarsi sul consumo di frutta, verdura, legumi, fonti proteiche sane (come pesce, frutta secca, pollame e latticini), cereali integrali e oli vegetali non tropicali (tra cui l'olio di palma), limitando il consumo di dolci, bevande zuccherate, alcolici e carni rosse. Se il paziente fosse un fumatore dovrebbe essere incoraggiato a cessare questa abitudine, in quanto si è visto che l'utilizzo di tabacco è il principale fattore di rischio modificabile che contribuisce a ridurre il rischio cardiovascolare. Questo punto risulta particolarmente importante in quanto si stima che circa il 60-80% dei pazienti con infezione da HIV siano fumatori. Inoltre, bisogna incoraggiare il paziente a effettuare un'attività fisica aerobica per almeno 30 minuti al giorno, che porta a diversi benefici come un

miglioramento del profilo lipidico, un'aumentata sensibilità all'insulina e un miglioramento della funzionalità cardiaca (Rodriguez, 2015).

3.3.2 Terapia farmacologica

Per il trattamento delle alterazioni del metabolismo si hanno a disposizione diversi tipi di farmaci. Tra i più utilizzati per le dislipidemie si hanno sicuramente le statine, farmaci ipocolesterolemizzanti frequentemente impiegati nella pratica clinica, vista la loro efficacia, sicurezza e basso costo. La prima scelta dovrebbe ricadere sulla atorvastatina per la sua efficacia e tollerabilità, ma anche rosuvastatina e pravastatina possono essere prese in considerazione. La scelta di somministrare le statine ad un paziente deve comunque essere basata sul grado di severità della dislipidemia e si deve sempre andare a valutare la possibile insorgenza di interazioni farmacologiche con i farmaci antiretrovirali, in particolare con gli inibitori delle proteasi (Bellosta et al., 2018). L'ezetimibe, un farmaco in grado di inibire l'assorbimento intestinale di colesterolo, può essere utilizzato in combinazione con le statine quando la risposta alle sole statine è scarsa. Per il trattamento dell'ipertrigliceridemia non responsiva alle misure dietetiche possono essere utilizzati i fibrati, in particolare il fenofibrato alla dose di 200mg al giorno che nei pazienti HIV positivi ha dimostrato una buona efficacia (Gebhardt & Fichtenbaum, 2019).

Per il trattamento dell'insulino-resistenza e del diabete mellito di tipo 2 i farmaci di scelta sono rappresentati dalla metformina e dall'insulina. La metformina è ben conosciuta nella pratica clinica per la sua sicurezza, efficacia, capacità di non causare episodi di ipoglicemia o aumento di peso corporeo e il suo basso costo. L'insulina viene utilizzata in caso di diabete di lunga data e anche questo è considerato un farmaco di prima scelta, avendo anche la caratteristica di non presentare interazioni farmacologiche con nessuno dei farmaci antiretrovirali attualmente a disposizione. Altri farmaci, come le incretine, le sulfaniluree e i tiazolidinedioni, vengono meno frequentemente impiegati vista la loro possibilità

di causare un aumento del peso, episodi di ipoglicemia o altri effetti collaterali (Noubissi et al., 2018).

3.3.3 Modificazione della terapia antiretrovirale

Come è già stato precedentemente enunciato, alcuni farmaci antiretrovirali, in particolare gli inibitori delle proteasi, possono presentare tra i vari effetti collaterali importanti alterazioni del profilo metabolico. Proprio in base a queste evidenze, negli ultimi anni si è cercato di modificare la combinazione di farmaci da utilizzare per la terapia antiretrovirale col fine di ottenere un migliore controllo di queste complicanze. Diversi studi hanno dimostrato come gli inibitori delle integrasi risultino molto più tollerabili dal punto di vista metabolico e di come quindi i pazienti possano beneficiare di uno switch da un regime PI-based ad uno INI-based nella terapia di mantenimento dell'infezione da HIV.

Gli studi SWITCHMRK 1 e 2 e lo SPIRAL STUDY, tutti pubblicati nel 2010, hanno analizzato come i pazienti che effettuavano uno switch a raltegravir avessero un netto miglioramento del profilo lipidico rispetto al gruppo di controllo che continuava la terapia con lopinavir/ritonavir (Eron et al., 2010) (Martinez et al., 2010).

Il progetto SCOLTA, pubblicato nel 2019, prende in considerazione i possibili benefici di un altro inibitore delle integrasi, il dolutegravir (Bagella et al., 2019). In questo studio prospettico, osservazionale e multicentrico sono stati arruolati 131 pazienti che hanno effettuato uno switch a dolutegravir: 79 di questi pazienti precedentemente facevano terapia con inibitori delle proteasi, mentre gli altri 52 con NNRTI. I pazienti che utilizzavano dolutegravir mostravano un miglioramento del profilo lipidico che diventava significativo a partire dalla 24 settimana, con una riduzione del colesterolo totale, LDL e trigliceridi e un lieve aumento del colesterolo HDL, mentre i livelli di glicemia non mostravano delle variazioni significative. Questi miglioramenti erano più marcati nei pazienti che precedentemente erano in terapia con inibitori delle proteasi, ad ulteriore

conferma della maggiore tossicità metabolica di questa classe di farmaci rispetto alle altre utilizzabili per la terapia antiretrovirale.

Tutti questi studi vanno a confermare l'efficacia degli inibitori degli integrasi nel migliorare il profilo metabolico e di come i pazienti possano quindi effettivamente trarre un beneficio da una terapia con INI utilizzati in alternativa agli inibitori delle proteasi.

Capitolo 4: DESCRIZIONE DELLO STUDIO

4.1 Obiettivi dello studio

L'obiettivo primario di questo studio è quello di valutare, a parità di efficacia nel controllo dell'infezione, eventuali miglioramenti nel tempo del profilo metabolico dei pazienti che sono passati da un regime terapeutico che prevede l'utilizzo di inibitori delle proteasi (PI) ad uno basato sugli inibitori delle integrasi (INI). Vi è infatti ormai un considerevole corpo di letteratura che riporta gli effetti collaterali sul metabolismo degli inibitori delle proteasi e, di contro, una maggiore tollerabilità degli inibitori delle integrasi.

Come obiettivo secondario, si è andato a valutare se questo cambio di terapia, incidendo minormente sul profilo metabolico, sia anche in grado di ridurre il rischio cardiovascolare di questi pazienti valutato secondo l'ACC/AHA score.

4.2 Pazienti e metodi

In questo studio sperimentale, prospettico e multicentrico (5 centri clinici di 3 ospedali terziari italiani) conclusosi a febbraio 2020, sono stati arruolati 83 pazienti, di cui 26 (31%) provenienti dalla Clinica di Malattie Infettive dell'Azienda Ospedaliera Ospedali Riuniti Marche Nord di Pesaro, 15 (18%) dalla UOC Malattie Infettive dell'Ospedale Augusto Murri di Fermo e 42 (51%) provenienti da Ancona così suddivisi: 13 dalla Unità di Immunologia Clinica del Dipartimento delle Scienze Cliniche e Molecolari dell'Università Politecnica delle Marche; 10 dalla Divisione di Malattie Infettive e 19 dalla Clinica di Malattie Infettive entrambi dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Ospedali Riuniti di Ancona.

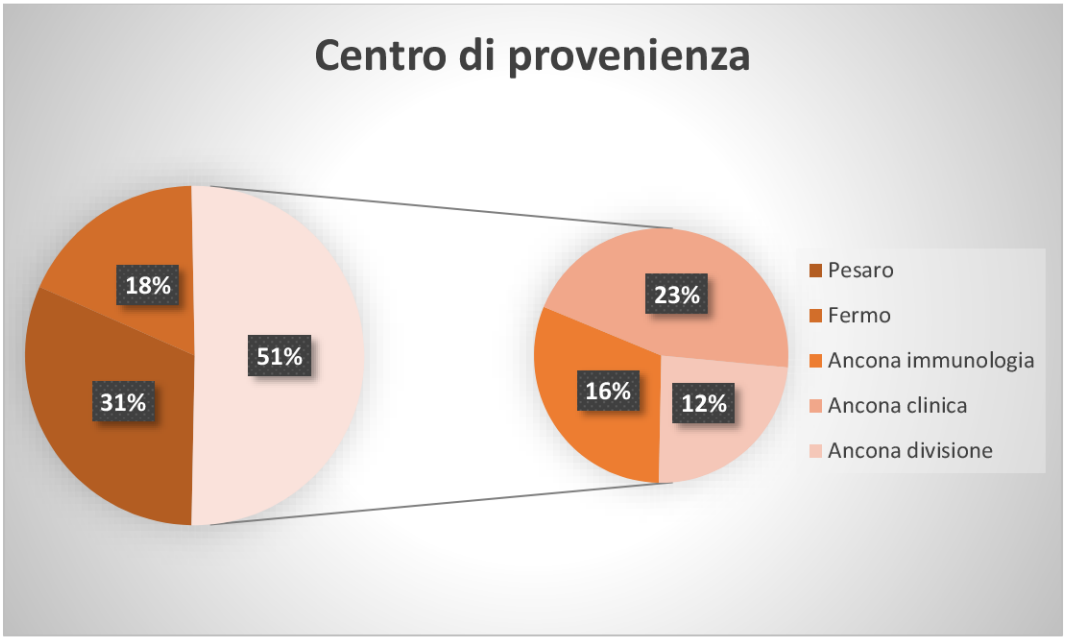


Grafico 1. Centro di provenienza dei pazienti inclusi nello studio

I pazienti presi in considerazione hanno un'età mediana allo switch di 51 anni (44,5-58), 58 (69,9%) sono di sesso maschile e 25 (30,1%) di sesso femminile. 76 (91,6%) di questi pazienti sono di etnia caucasica mentre 7 (8,4%) sono di etnia africana.

Due sono i fattori di rischio considerati per questi pazienti: la presenza di diabete e l'abitudine tabagica. Tra i pazienti arruolati, 4 (4,8%) sono diabetici e 37 (44,6%) sono fumatori.

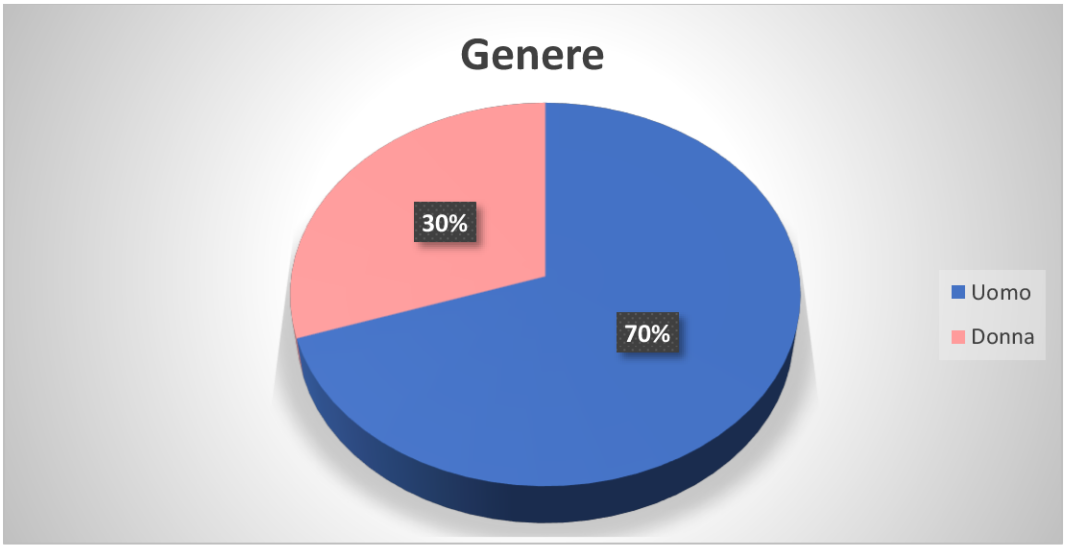


Grafico 2. Genere dei pazienti

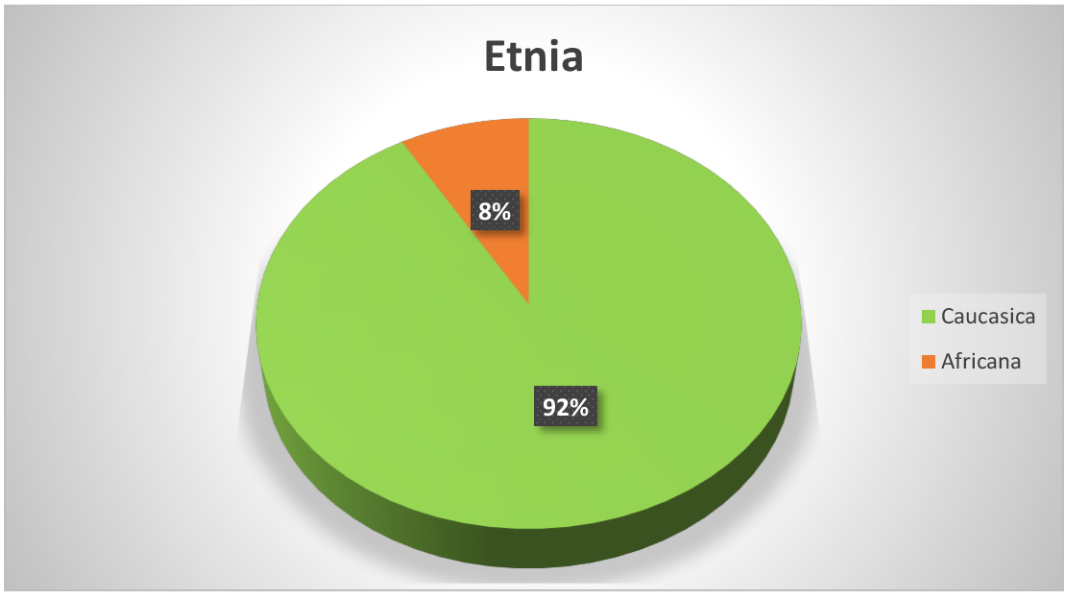


Grafico 3. Etnia dei pazienti

Tutti i pazienti arruolati hanno effettuato uno switch da PI a INI a partire dal 2015. Antecedentemente lo switch, 41 pazienti (49,4%) facevano una terapia con darunavir (DRV), 36 (43,4%) con atazanavir (ATV) e 6 (7,2%) con lopinavir (LPV), mentre, dopo lo switch, 55 pazienti (66,3%) sono in terapia con dolutegravir (DTG), 20 (24,1%) con elvitegravir (ELV) e 8 (9,6%) con raltegravir (RAL). Elvitegravir, a differenza degli altri due, vieni sempre somministrato in associazione con un booster.

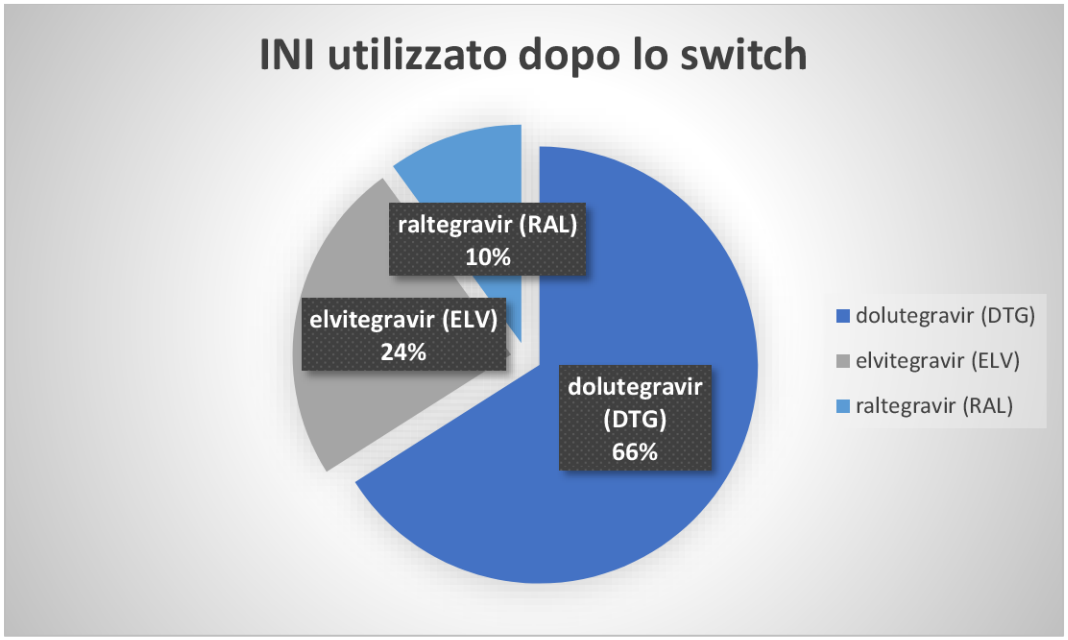


Grafico 4. Pazienti suddivisi in base al tipo di inibitore dell'integrasi utilizzato dopo lo switch

Lo switch è stato effettuato per problemi dismetabolici in 24 (28,9%) pazienti, per la semplificazione della terapia in 25 (30,1%) pazienti, per interazioni farmacologiche in 4 (4,8%) pazienti, per mancato controllo virologico in 3 (3,7%) pazienti, per ragioni proattive in 6 (7,2%) pazienti e il motivo non è stato specificato in 21 (25,3%) pazienti.

Nella seguente tabella sono riassunte le caratteristiche principali dei pazienti arruolati nello studio:

Centro di provenienza	
Pesaro n(%)	26 (31,3)
Fermo n(%)	15 (18,1)
Ancona n(%)	42 (50,6)
Età al momento dello switch (mediana, IQR)	51 (44,5-58)
Genere	
M n(%)	58 (69,9)
F n(%)	25 (30,1)
Etnia	
Caucasica n(%)	76 (91,6)
Africana n(%)	7 (8,4)
Peso kg (mediana, IQR)	73 (64-84)
Diabete n(%)	4 (4,8)
Fumo n(%)	37 (44,6)
ART pre-switch	
Terapia di combinazione con DRV n(%)	41 (49,4)
Terapia di combinazione con ATV n(%)	36 (43,4)
Terapia di combinazione con LPV n(%)	6 (7,2)
ART post-switch	
Terapia di combinazione con DTG n(%)	55 (66,3)
Terapia di combinazione con ELV n(%)	20 (24,1)
Terapia di combinazione con RAL n(%)	8 (9,6)
Motivo dello switch	
Semplificazione n(%)	25 (30,1)
Dismetabolico n(%)	24 (28,9)
Proattivo n(%)	6 (7,2)
Interazioni farmacologiche n(%)	4 (4,8)
Mancato controllo virologico n(%)	3 (3,7)
Non specificato	21 (25,3)

Tabella 1. Caratteristiche dei pazienti arruolati nello studio

I pazienti sono stati valutati nel tempo con un controllo clinico-laboratoristico al momento dello switch (T0), altri due controlli rispettivamente a 3 e 6 mesi di distanza (T3 e T6) ed infine gli ultimi due controlli a 12 mesi (T12) e a 24 mesi (T24). I parametri che si sono considerati sono:

- Carica virale (HIV-RNA)
- Conta dei CD4 mediante tipizzazione linfocitaria
- CD4%
- CD4/CD8
- Il profilo lipidico valutando il colesterolo totale, LDL, HDL e trigliceridi
- Il profilo glucidico mediante monitoraggio della glicemia
- La funzionalità epatica mediante la valutazione delle transaminasi AST/GOT e ALT/GPT e della bilirubina
- La funzionalità renale mediante la valutazione della creatininemia
- Il fibrinogeno
- Il peso
- Il rischio cardiovascolare mediante l'ACC/AHA score

L'ACC/AHA score è uno score ideato dall'American College of Cardiology e dall'American Heart Association che calcola la probabilità di avere un evento cardiovascolare nei 10 anni successivi, valutando l'età del paziente (che per poter calcolare il punteggio deve essere compresa tra i 40 e i 79 anni), il sesso, l'etnia, il valore del colesterolo totale, del colesterolo HDL, la pressione sistolica, l'eventuale presenza di diabete, di trattamento antipertensivo e l'abitudine tabagica. Il rischio cardiovascolare viene considerato basso se lo score è inferiore al 5%, borderline se compreso tra il 5 e il 7,4%, intermedio tra il 7,5 e il 19,9% e si è ad alto rischio se il risultato è maggiore del 20% (Arnett et al., 2019).

I valori dei parametri valutati al momento dello switch sono elencati nella seguente tabella:

Stato immunovirologico al momento dello switch	
Carica virale rilevabile n(%)	11 (13,3)
Conta dei CD4 (mediana, IQR)	682,5 (440,75-960)
CD4 % (mediana, IQR)	32 (24,2-38,6)
CD4/CD8 (mediana, IQR)	0,8 (0,6-1,2)
Valori ematochimici al momento dello switch	
Colesterolo totale (mediana, IQR)	219 (189,5-251,5)
LDL (mediana, IQR)	144 (128-165,5)
HDL (mediana, IQR)	44 (38-53)
Trigliceridi (mediana, IQR)	140 (99,5-189)
Glucosio (mediana, IQR)	89 (81-95)
GOT/AST (mediana, IQR)	22,5 (17,25-29)
GPT/ALT (mediana, IQR)	28 (18-38,75)
Creatinina (mediana, IQR)	0,9 (0,75-1,015)
Fibrinogeno (mediana, IQR)	302,5 (258,25-356)
ACC/AHA score (mediana, IQR)	7,6 (4,525-18,125)

Tabella 2. Parametri immunovirologici ed ematochimici al momento dello switch

4.3 Risultati dello studio

Tutti i pazienti sono stati seguiti per almeno 12 mesi, mentre per 35 (42,2%) non è stato possibile effettuare l'ultimo controllo a 24 mesi, in quanto hanno effettuato lo switch più tardivamente e il follow-up è ancora in corso.

Per ogni parametro considerato si è andata a valutare la sua modificazione nel tempo, intesa come un aumento o una diminuzione del valore mediano di partenza, su tutti gli 83 pazienti dello studio. Inoltre, successivamente sono stati analizzati i risultati ottenuti dividendo i pazienti in tre gruppi in base al tipo di inibitore delle integrasi utilizzato.

L'analisi statistica dei risultati ottenuti è stata effettuata mediante il test t di Student per dati appaiati e ciascuno degli 83 pazienti è stato valutato come controllo di sé stesso al termine del periodo di osservazione. I risultati sono considerati significativi ad un p-value< 0.05.

4.3.1 Monitoraggio viro-immunologico

Al momento dello switch 11 pazienti, corrispondenti al 13,3% del totale, presentavano una viremia rilevabile con HIV-RNA > 50 copie/ml. Durante il follow-up questa condizione è andata migliorando e si ha avuto una riduzione dei pazienti non virosoppressi, che sono passati a 3 (4%) al T3 e a 5 (6,4%) al T6. Infine, a distanza di 12 e 24 mesi dallo switch (T12 e T24) solo 1 paziente (1,3%) presentava una viremia rilevabile.

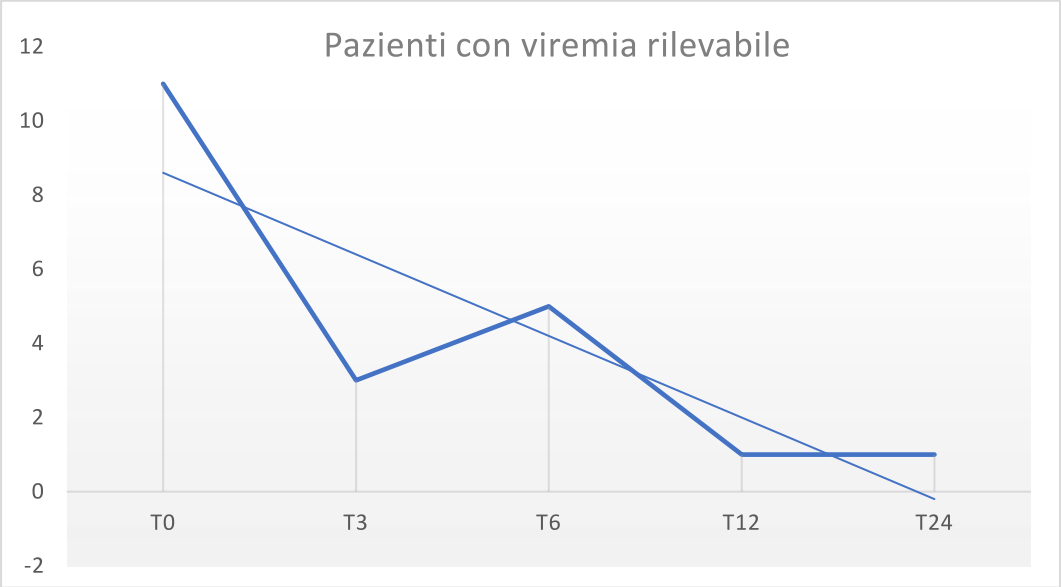


Grafico 5. Numero dei pazienti non virosoppressi durante i vari follow-up

Si è potuto evidenziare, inoltre, un modico miglioramento dei parametri immunologici valutati mediante i linfociti CD4+ totali, il rapporto CD4/CD8 e la CD4%.

I linfociti CD4+, che al momento dello switch avevano un valore mediano di 682,5 cellule/mm^3, hanno avuto un aumento statisticamente significativo al T24 di 65 cellule/mm^3 (p=0.02). Andando a valutare le modificazioni dei linfociti in base al tipo di trattamento effettuato, vediamo come nei pazienti in trattamento con dolutegravir ci sia un modico incremento di 32 cellule/mm^3 al T24 non statisticamente significativo (p= 0.08). Nei pazienti trattati con raltegravir si nota un aumento importante, rispettivamente di 138 cellule/mm^3 al T3 (p= 0.69), di 66 cellule/mm^3 al T6 (p= 0.89), di 52 cellule/mm^3 al T12 (p= 0.93) e di 130,5 cellule/mm^3 al T24 (p= 0.32), ma nessuno di questi aumenti si presenta statisticamente significativo. Infine, i pazienti in terapia con elvitegravir vanno incontro a una modesta riduzione di questo parametro al T24, corrispondente a 16 cellule/mm^3, statisticamente non significativo (p= 0.45).

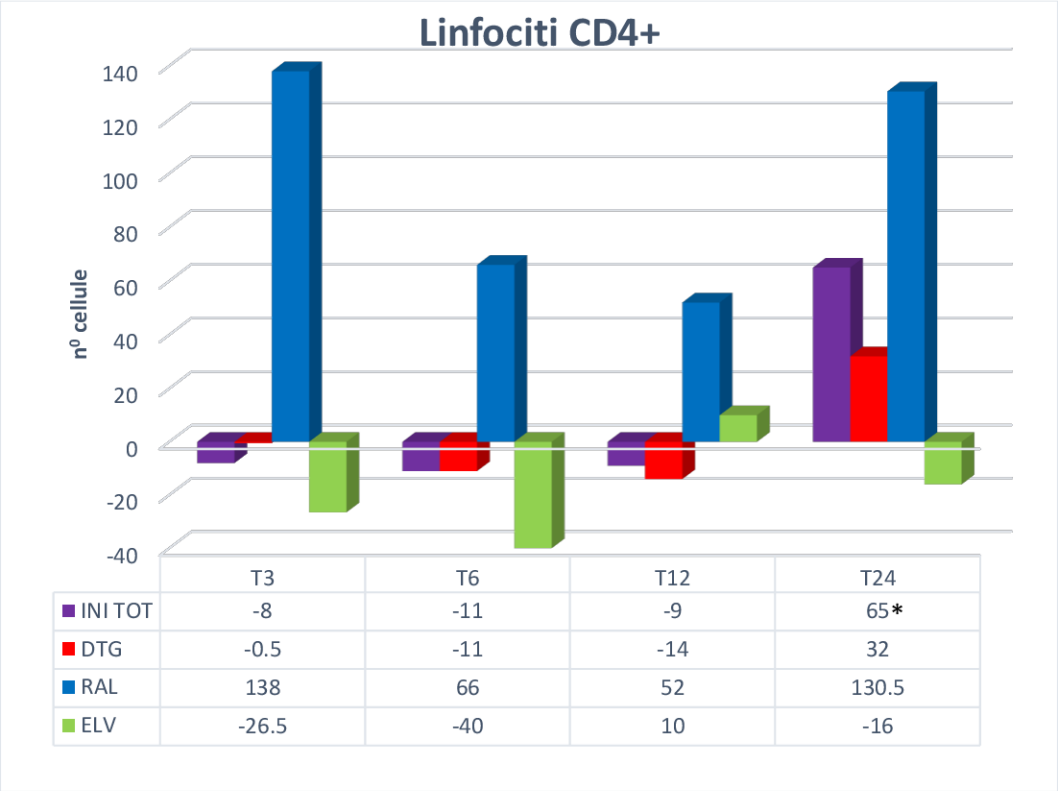
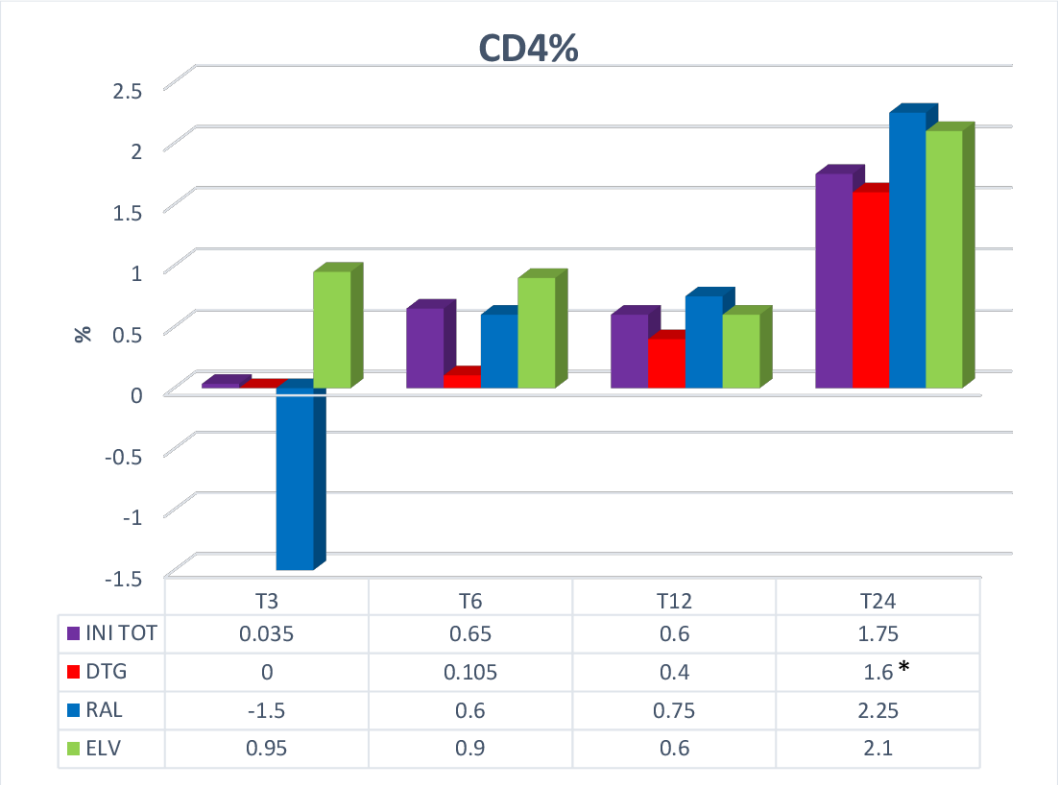


Grafico 6. Modificazioni dei linfociti CD4+ durante il follow-up, suddiviso in base al tipo di trattamento effettuato. *p< 0.05

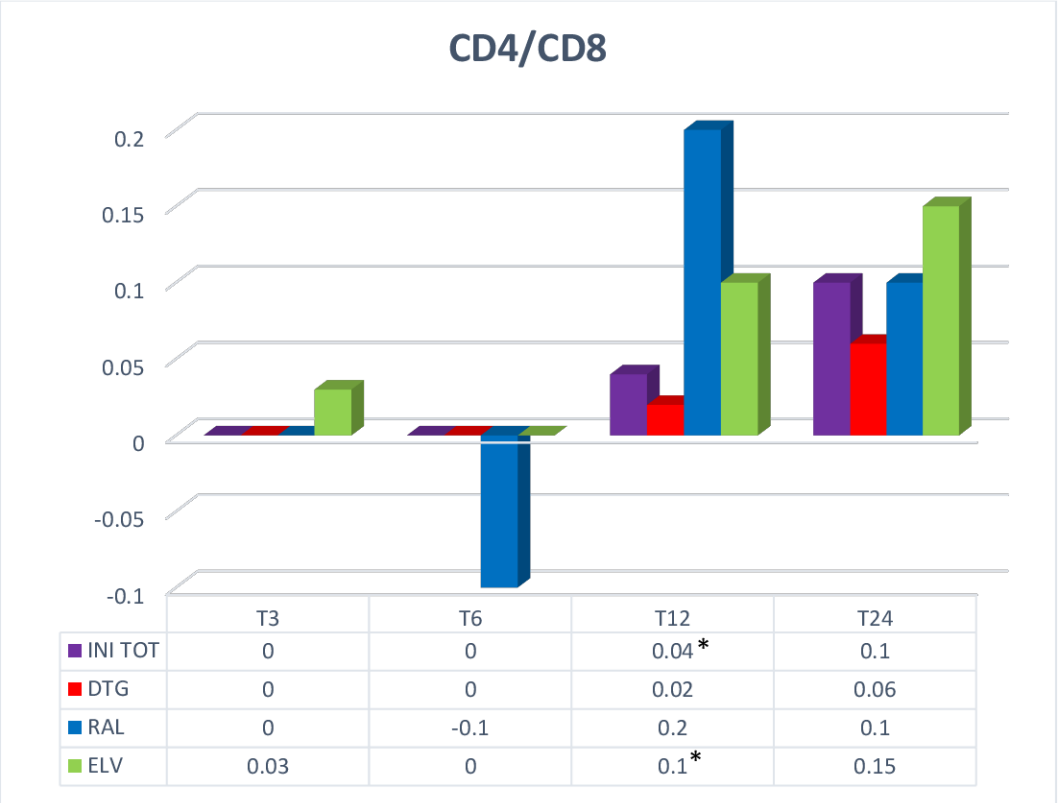
La CD4%, che nelle persone sane si assesta intorno al 40% (tra 32% e 68%), presenta un valore mediano al momento dello switch del 32% e va incontro ad un miglioramento nel tempo che si presenta statisticamente significativo al T24 (p= 0.01), con un aumento del valore mediano di 1,75%. Considerando i tre gruppi, vediamo come i pazienti con dolutegravir vadano incontro ad un leggero aumento di 1,6% al T24 statisticamente significativo (p< 0.01), aumento che si conferma anche in chi è trattato con raltegravir ed elvitegravir, anche se nessuno degli aumenti che si verifica durante il follow-up è statisticamente significativo al T24 (rispettivamente p= 0.14 e p= 0.73).



	T3	T6	T12	T24
INI TOT	0.035	0.65	0.6	1.75
DTG	0	0.105	0.4	1.6 *
RAL	-1.5	0.6	0.75	2.25
ELV	0.95	0.9	0.6	2.1

Grafico 7. Modificazione della CD4% durante il follow-up, diviso in base al tipo di trattamento effettuato. *p< 0.05

Il rapporto CD4/CD8, che in un adulto sano presenta un valore maggiore o uguale a 1, al momento dello switch presenta un valore mediano di 0,8. Durante i primi due controlli, al T3 e al T6, non va incontro a cambiamenti, mentre presenta un aumento di 0,04 al T12 statisticamente significativo (p= 0.01) e un aumento di 0,1 al T24 statisticamente non significativo (p= 0.15). Valutando i risultati per i diversi gruppi di trattamento, vediamo come questo valore sostanzialmente rimanga invariato o vada incontro a degli aumenti molto modesti, tutti statisticamente non significativi, ad eccezione di un aumento di 0,1 al T12 (p= 0.01) ottenuto in un regime con elvitegravir.



	T3	T6	T12	T24
INI TOT	0	0	0.04*	0.1
DTG	0	0	0.02	0.06
RAL	0	-0.1	0.2	0.1
ELV	0.03	0	0.1*	0.15

Grafico 8. Modificazione del rapporto CD4/CD8 durante il follow-up, diviso in base al tipo di trattamento effettuato. *p< 0.05

4.3.2 Colesterolo totale

I valori desiderabili di colesterolo totale in una popolazione adulta sono sotto i 200 mg/dl. Nei pazienti inclusi in questo studio il valore mediano di colesterolo totale al T0 è di 219 mg/dl e andando a valutare le sue modificazioni durante il follow-up si può osservare una sua diminuzione nel tempo, rispettivamente di 26 mg/dl al T3, di 9 mg/dl al T6, ancora di 9 mg/dl al T12 e infine di 11,5 mg/dl al T24. Questa diminuzione si presenta statisticamente significativa al T3 ($p< 0.01$) e al T12 ($p< 0.01$) mentre non lo è al T6 ($p= 0.057$) e al T24 ($p= 0.09$).

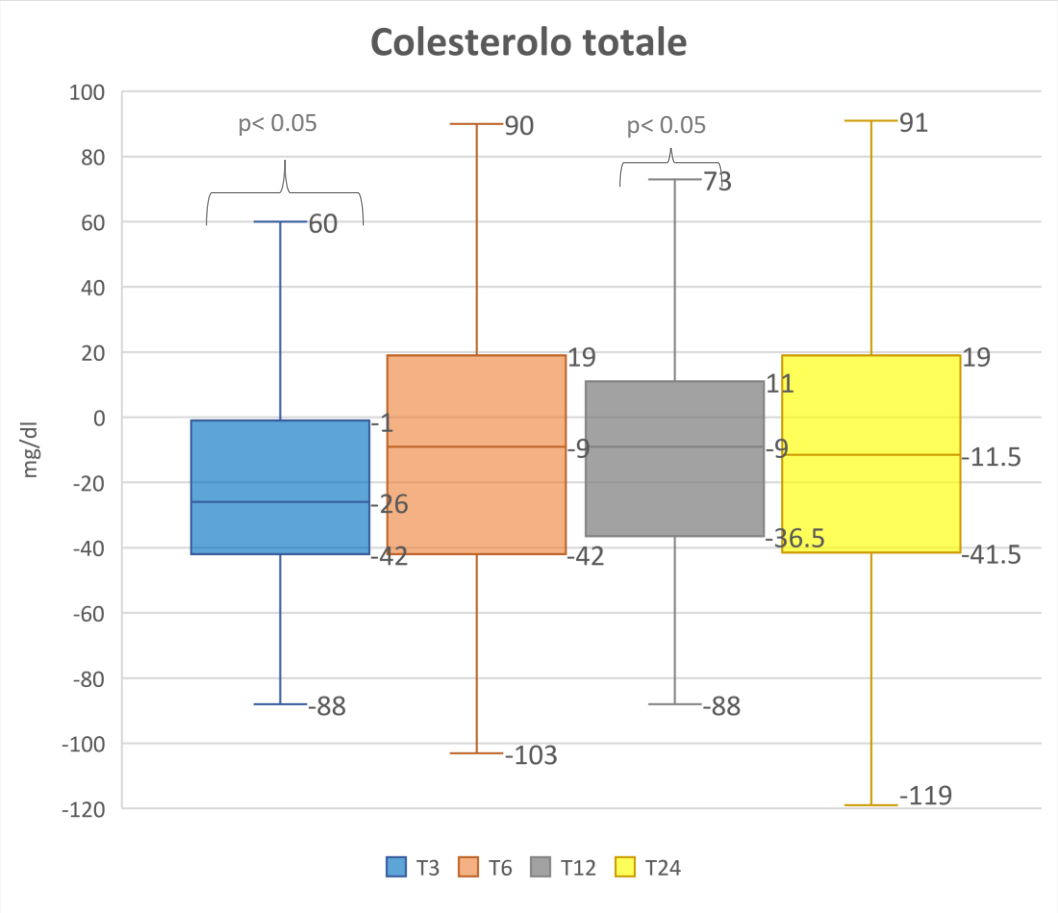
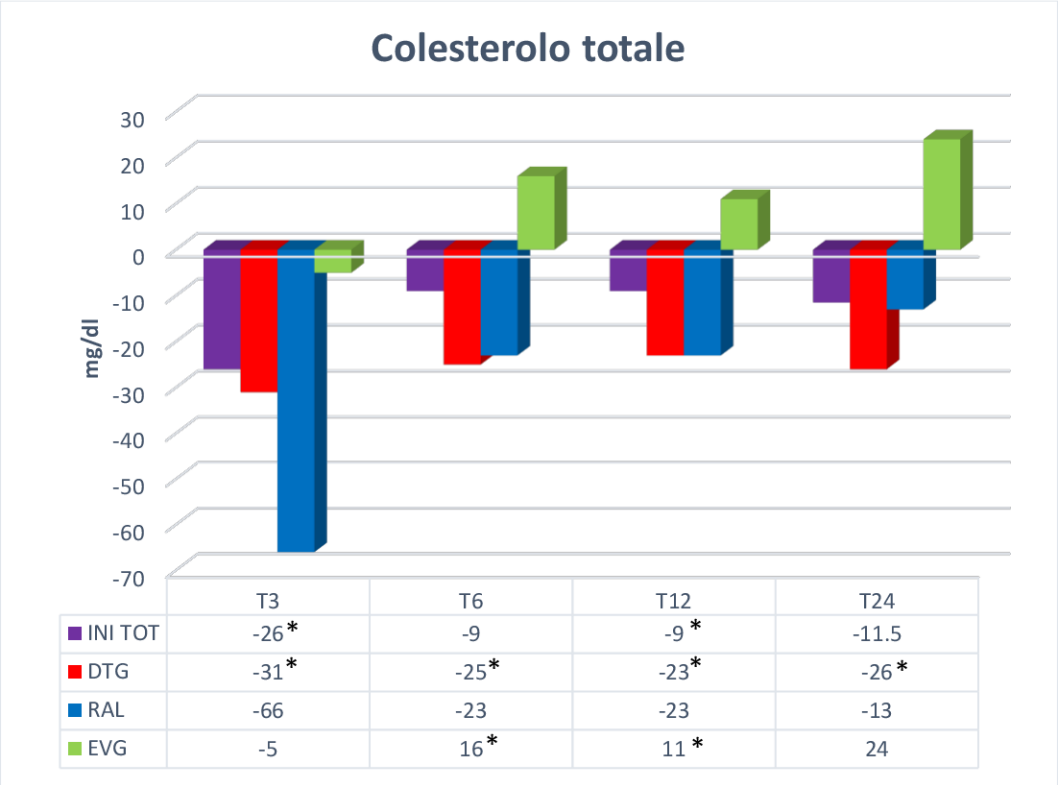


Grafico 9. Riduzione del valore mediano di colesterolo totale al T3, T6, T12 e T24.

Andando ad analizzare le singole popolazioni, suddivise in base al trattamento effettuato dopo lo switch, si può evidenziare come i pazienti in terapia con il dolutegravir mostrino delle riduzioni significative del colesterolo totale durante tutte le osservazioni, con una riduzione di 31 mg/dl al T3 ($p< 0.01$), di 25 mg/dl al T6 ($p< 0.01$), di 23 mg/dl al T12 ($p< 0.01$) e di 26 mg/dl al T24 ($p= 0.01$). Anche i pazienti in trattamento con raltegravir presentano una riduzione, ma nessuna di queste si presenta statisticamente significativa, mentre i pazienti trattati con elvitegravir vanno incontro ad un aumento del colesterolo totale che si presenta statisticamente significativo al T6 e al T12, rispettivamente di 16 mg/dl ($p= 0.02$) e di 11 mg/dl ($p= 0.04$).



	T3	T6	T12	T24
INI TOT	-26*	-9	-9*	-11.5
DTG	-31*	-25*	-23*	-26*
RAL	-66	-23	-23	-13
EVG	-5	16*	11*	24

Grafico 10. Modificazioni del colesterolo totale durante il follow-up, suddiviso in base al tipo trattamento effettuato. *p< 0.05

4.3.3 Colesterolo LDL

I valori di colesterolo LDL in una persona adulta dovrebbero mantenersi al di sotto dei 130 mg/dl. Nei pazienti inclusi di questo studio il valore mediano al momento dello switch è di 144 mg/dl e durante il follow-up si assiste ad una riduzione di questo parametro, rispettivamente di 17 mg/dl al T3 (p< 0.01), di 1 mg/dl al T6 (p= 0.13), di 10 mg/dl al T12 (p= 0.01) e di 7 mg/dl al T24 (p= 0.13).

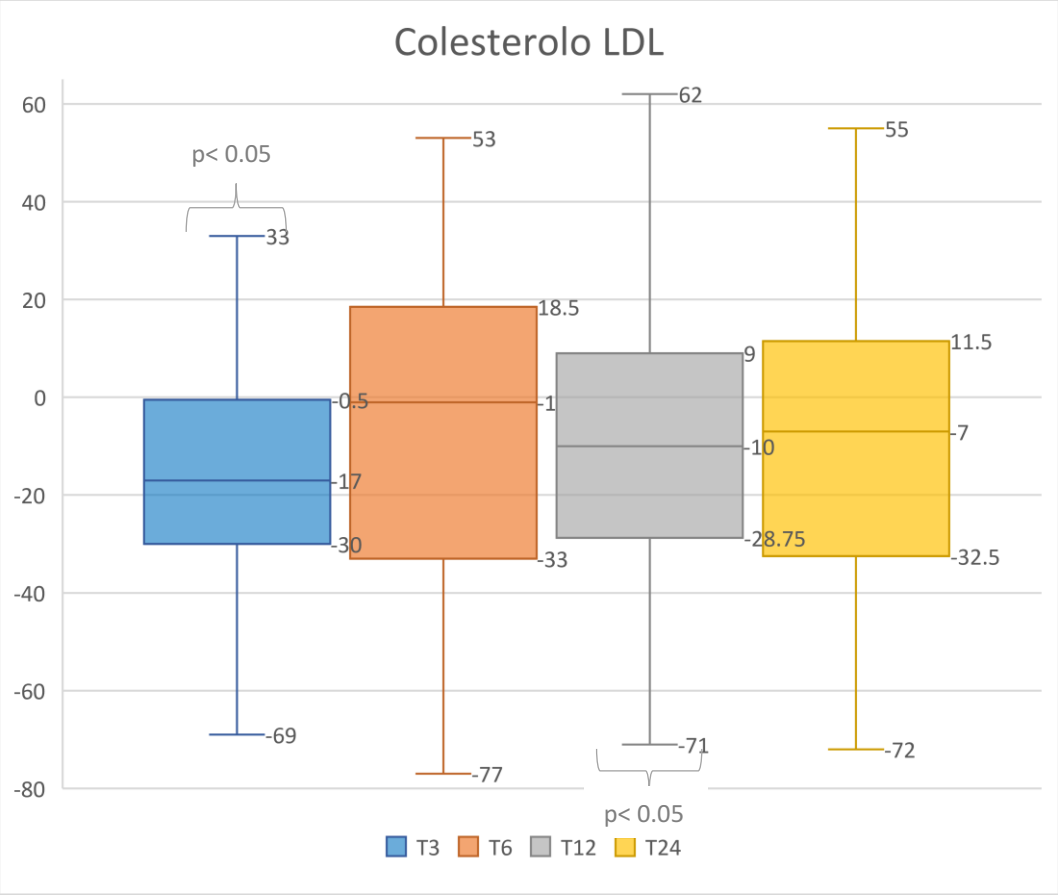
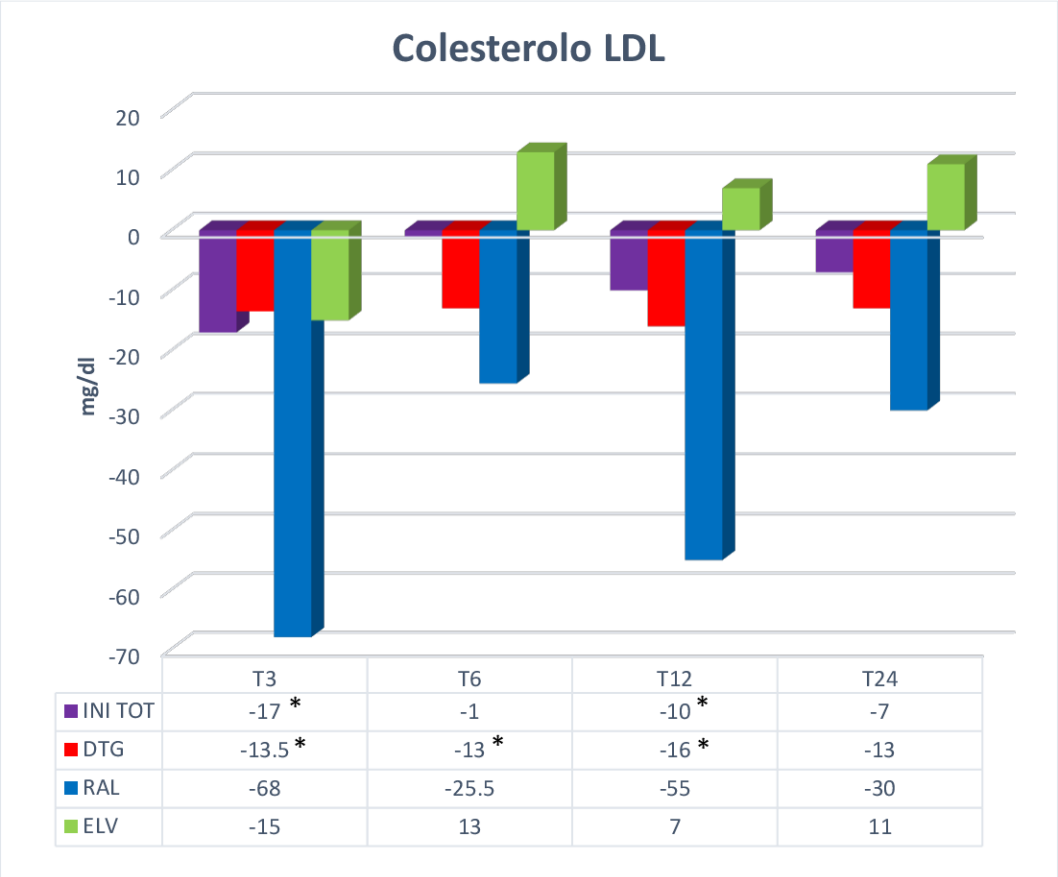


Grafico 11. Riduzione del valore mediano di colesterolo LDL al T3, T6, T12, T24

Dividendo i risultati ottenuti per i tre gruppi di trattamento, si può osservare come i pazienti in terapia con dolutegravir mostrino una modesta diminuzione di colesterolo LDL in tutte le osservazioni effettuate e questa riduzione è statisticamente significativa al T3 (-13,5 mg/dl, p= 0.02), al T6 (-13 mg/dl, p= 0.01) e al T12 (-16 mg/dl, p< 0.01), mentre non lo è al T24 (-13 mg/dl, p=0.06). Anche i pazienti con raltegravir vanno incontro a riduzioni di questo parametro senza però avere la significatività statistica. Contrariamente a quanto osservato con i primi due farmaci, i pazienti trattati con elvitegravir mostrano un aumento del colesterolo LDL, evidenziabile al T6 (13 mg/dl), al T12 (7 mg/dl) e al T24 (11 mg/dl), che comunque non è statisticamente significativo (rispettivamente p= 0.053, p=0.39 e p= 0.26).



	T3	T6	T12	T24
INI TOT	-17 *	-1	-10 *	-7
DTG	-13.5 *	-13 *	-16 *	-13
RAL	-68	-25.5	-55	-30
ELV	-15	13	7	11

Grafico 12. Modificazioni del colesterolo LDL durante il follow-up, suddiviso in base al tipo di trattamento effettuato. *p< 0.05

4.3.4 Colesterolo HDL

I valori di colesterolo HDL desiderabili in una popolazione adulta sono ≥ 40 mg/dl negli uomini e ≥ 50 mg/dl nelle donne. In questo gruppo di pazienti il valore mediano di colesterolo HDL al momento dello switch è di 44 mg/dl e questo parametro va incontro a modesti aumenti durante il follow-up, pari a 1 mg/dl al T3 (p=0.5), a 3,5 mg/dl al T6 (p= 0.27), a 3 mg/dl al T12 statisticamente significativo (p= 0.04) e a 1 mg/dl al T24 (p= 0.39).

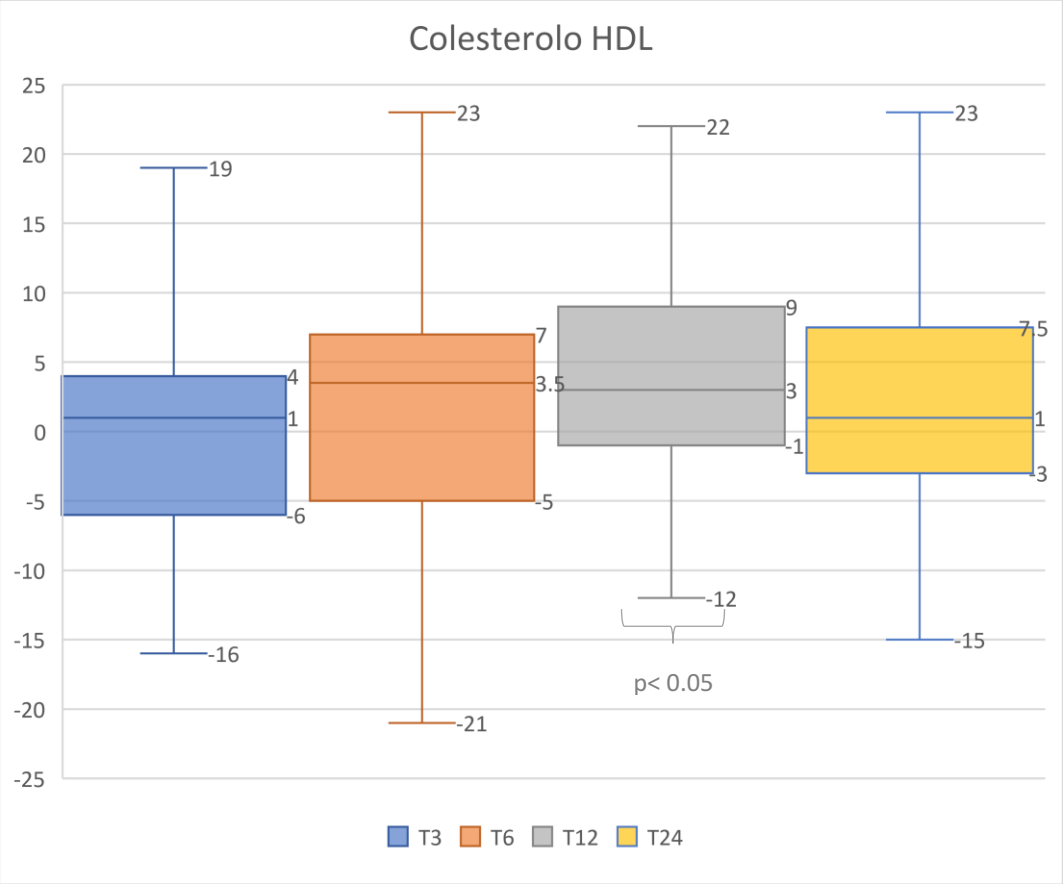
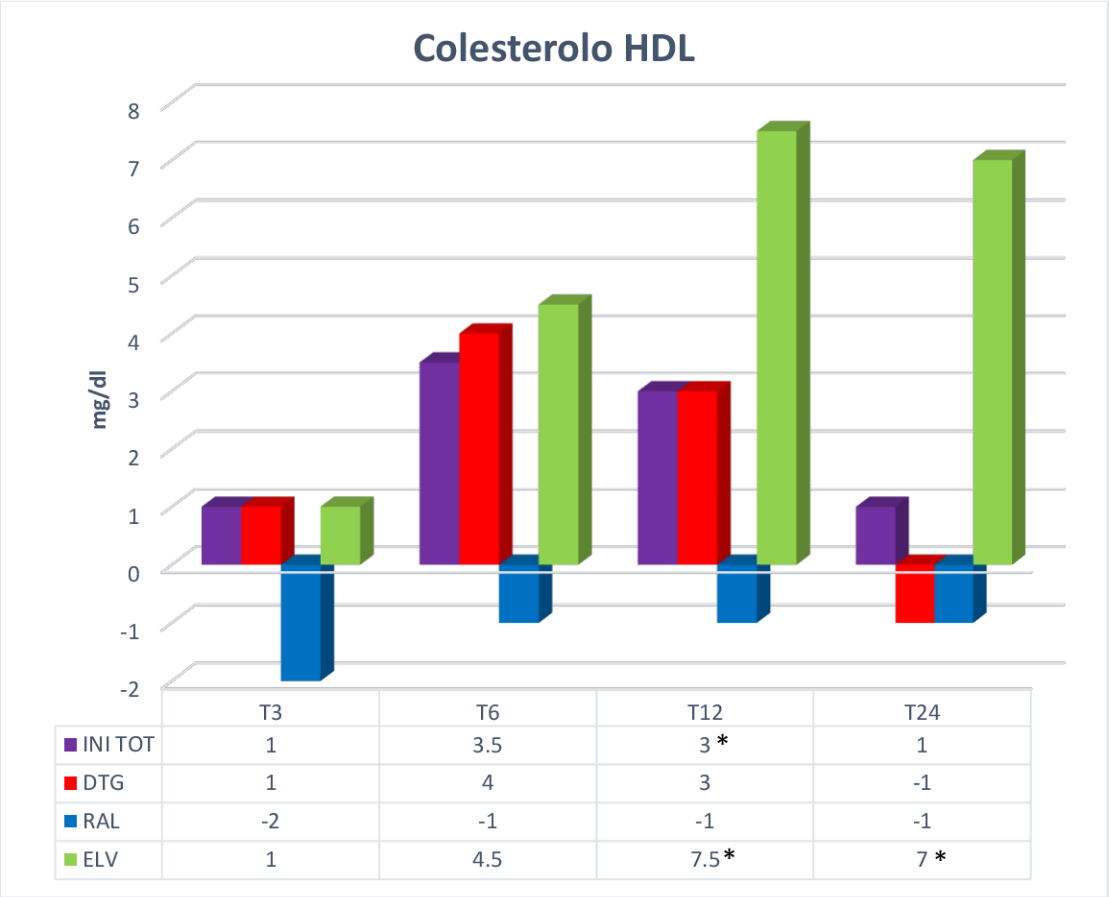


Grafico 13. Modificazioni del valore mediano di colesterolo HDL al T3, T6, T12 e T24

Valutando le modificazioni del colesterolo HDL per i singoli gruppi di trattamento, si può osservare che i pazienti in terapia con dolutegravir vanno incontro a dei modesti aumenti durante il follow-up, senza che però questi si presentino mai statisticamente significativi; mentre chi utilizza raltegravir va incontro ad una riduzione di questo valore, anche questa statisticamente non significativa, che comunque è molto limitata e non eccede mai i 2 mg/dl. Nei pazienti in trattamento con elvitegravir si hanno invece dei risultati più interessanti, con degli aumenti importanti di colesterolo HDL durante tutte le osservazioni e in particolare al T12, con un aumento di 7,5 mg/dl, e al T24, con un aumento di 7 mg/dl, che si dimostrano anche statisticamente significativi (rispettivamente $p< 0.01$ e $p=0.04$).



	T3	T6	T12	T24
INI TOT	1	3.5	3 *	1
DTG	1	4	3	-1
RAL	-2	-1	-1	-1
ELV	1	4.5	7.5 *	7 *

Grafico 14. Modificazioni del colesterolo HDL durante il follow-up, suddiviso in base al tipo di trattamento effettuato. *p< 0.05

4.3.5 Trigliceridi

In una popolazione adulta il valore di trigliceridi desiderabile, associato ad un basso rischio cardiovascolare, è < 150 mg/dl. Nella popolazione considerata per questo studio il valore mediano di trigliceridi al momento dello switch è di 140 mg/dl, quindi abbastanza buono ed entro il range di normalità. Osservando le modificazioni nel tempo di questo parametro si possono notare dei risultati interessanti, con delle riduzioni importanti di questo valore fin dalle prime osservazioni. I trigliceridi vanno infatti incontro a una riduzione pari a 23 mg/dl al T3 (statisticamente significativa con p< 0.01), a 21,5 mg/dl al T6 (statisticamente significativa con p< 0.01) a 25,5 mg/dl al T12 (statisticamente significativa con p< 0.01) e a 16 mg/dl al T24 (statisticamente non significativa con p=0.08).

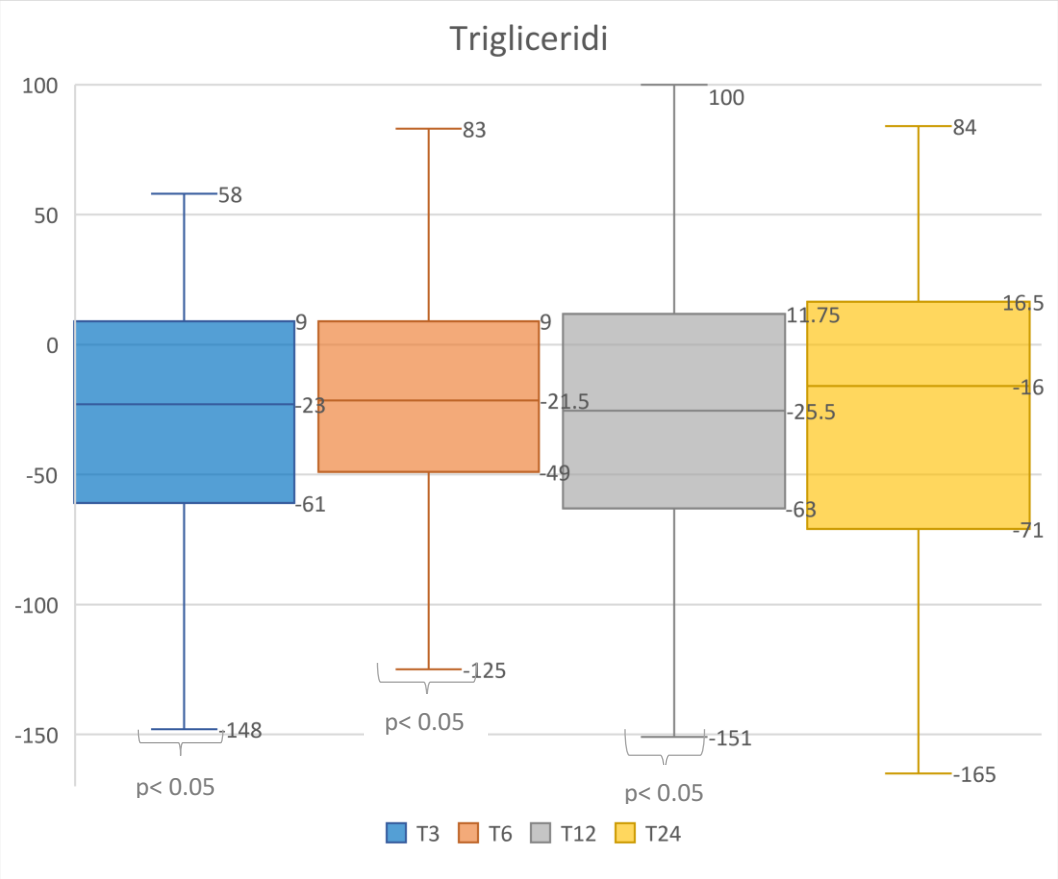
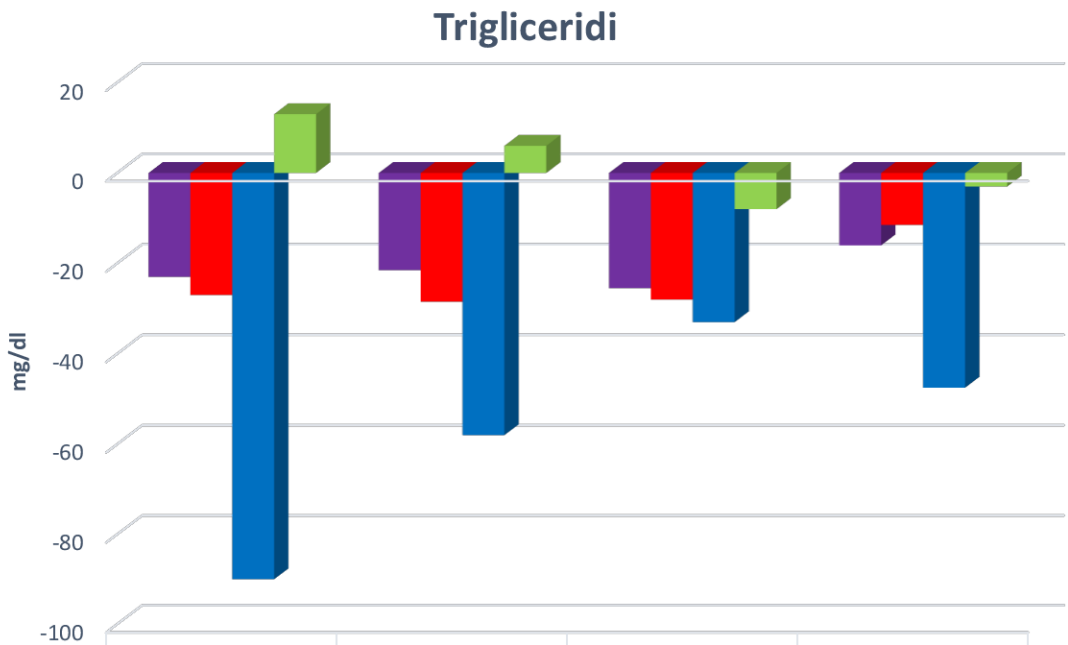


Grafico 15. Modificazioni del valore mediano dei trigliceridi al T3, T6, T12 e T24

L'importante riduzione del valore mediano di trigliceridi appena osservata si conferma anche nel gruppo di pazienti in trattamento con dolutegravir e raltegravir, con i primi che vanno incontro a una riduzione di 27 mg/dl al T3 (p= 0.02), di 28,5 mg/dl al T6 (p=0.01), di 28 mg/dl al T12 (p< 0.01) e di 11,5 mg/dl al T24 (p= 0.84); mentre la riduzione vista in chi utilizza raltegravir è di 90 mg/dl al T3 (p= 0.09), di 58 mg/dl al T6 (p= 0.13), di 33 mg/dl al T12 (p= 0.09) e di 47,5 mg/dl al T24 (p= 0.03). Contrariamente a quanto riscontrato finora, nella popolazione in trattamento con elvitegravir si può notare addirittura un incremento nelle prime due osservazioni, pari a 13 mg/dl al T3 e a 6 mg/dl al T6 statisticamente non significativo (rispettivamente p= 0.95 e p= 0.62), seguito da delle modeste riduzioni del valore mediano pari a 8 mg/dl al T12 e a 3 mg/dl al T24 anche queste statisticamente non significative (rispettivamente p= 0.67 e p= 0.55).

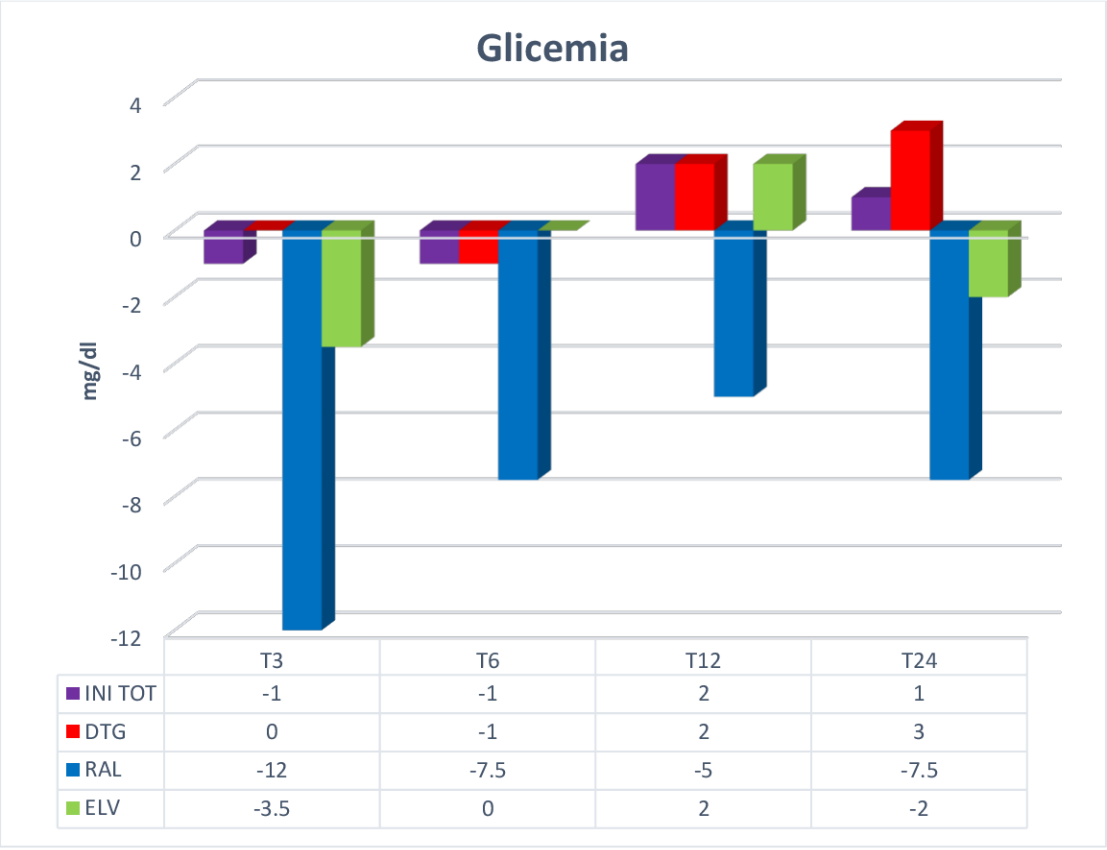


	T3	T6	T12	T24
INI TOT	-23 *	-21.5 *	-25.5 *	-16
DTG	-27 *	-28.5 *	-28 *	-11.5
RAL	-90	-58	-33	-47.5 *
ELV	13	6	-8	-3

Grafico 16. Modificazione dei trigliceridi durante il follow-up, diviso in base al tipo di trattamento effettuato. *p< 0.05

4.3.6 Glicemia

Per la glicemia sono considerati normali valori a digiuno < 100 mg/dl di glucosio ematico, se i valori sono compresi tra 100 e 126 mg/dl si parla di prediabete, mentre con valori ≥ 126 mg/dl si è in una condizione di diabete franco. Nella popolazione arruolata in questo studio il valore mediano di glicemia al momento dello switch è di 89 mg/dl, quindi all'interno di un range di normalità, con 4 pazienti (4,8%) che presentano diabete conclamato. Durante il follow-up questo valore si mantiene sostanzialmente invariato, con una riduzione di 1 mg/dl al T3 e al T6, un aumento di 2 mg/dl al T12 e di 1 mg/dl al T24, tutti statisticamente non significativi (rispettivamente p= 0.56, p= 0.70, p= 0.21 e p= 0.49). Anche andando ad osservare le modificazioni di questo parametro per i diversi gruppi di trattamento non si evidenziano delle modificazioni importanti della glicemia. Inoltre, nessuno dei risultati ottenuti si presenta statisticamente significativo.



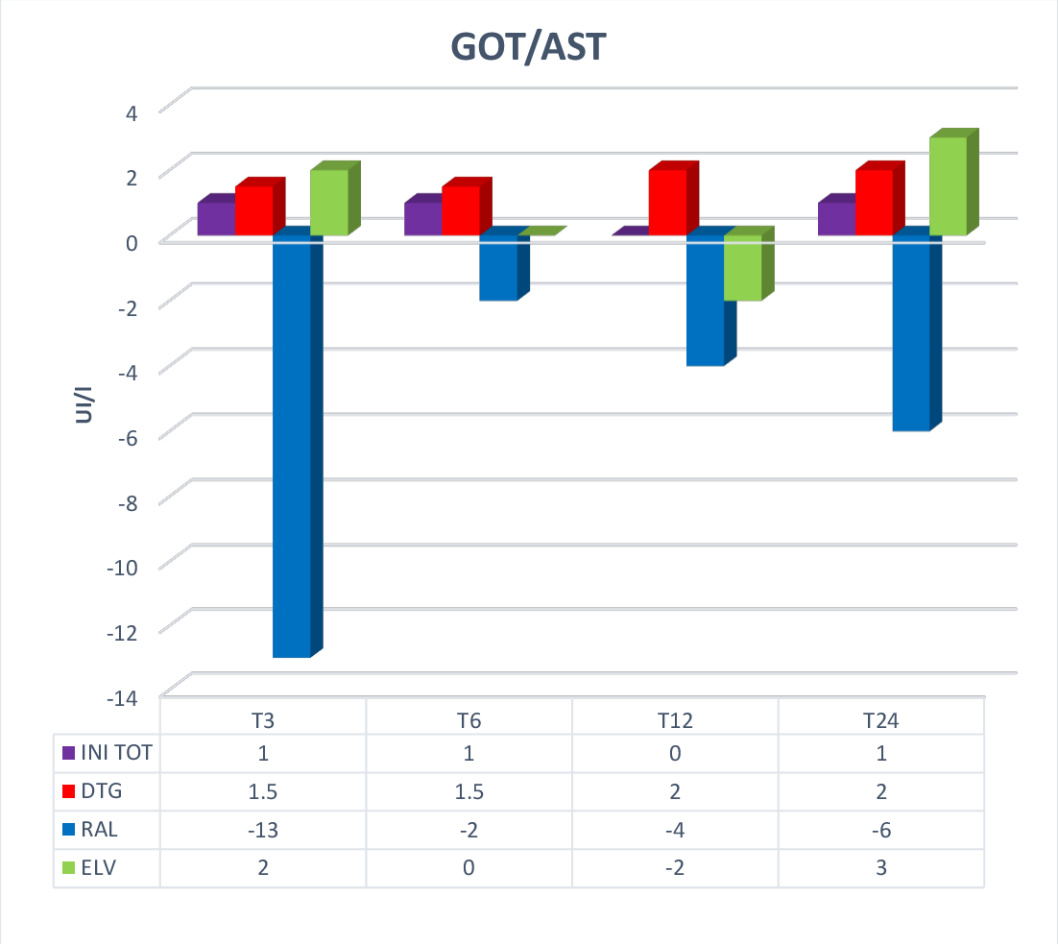
	T3	T6	T12	T24
INI TOT	-1	-1	2	1
DTG	0	-1	2	3
RAL	-12	-7.5	-5	-7.5
ELV	-3.5	0	2	-2

Grafico 17. Modificazione della glicemia durante il follow-up, diviso in base al tipo di trattamento effettuato. *p< 0.05

4.3.7 Transaminasi GOT/AST e GPT/ALT

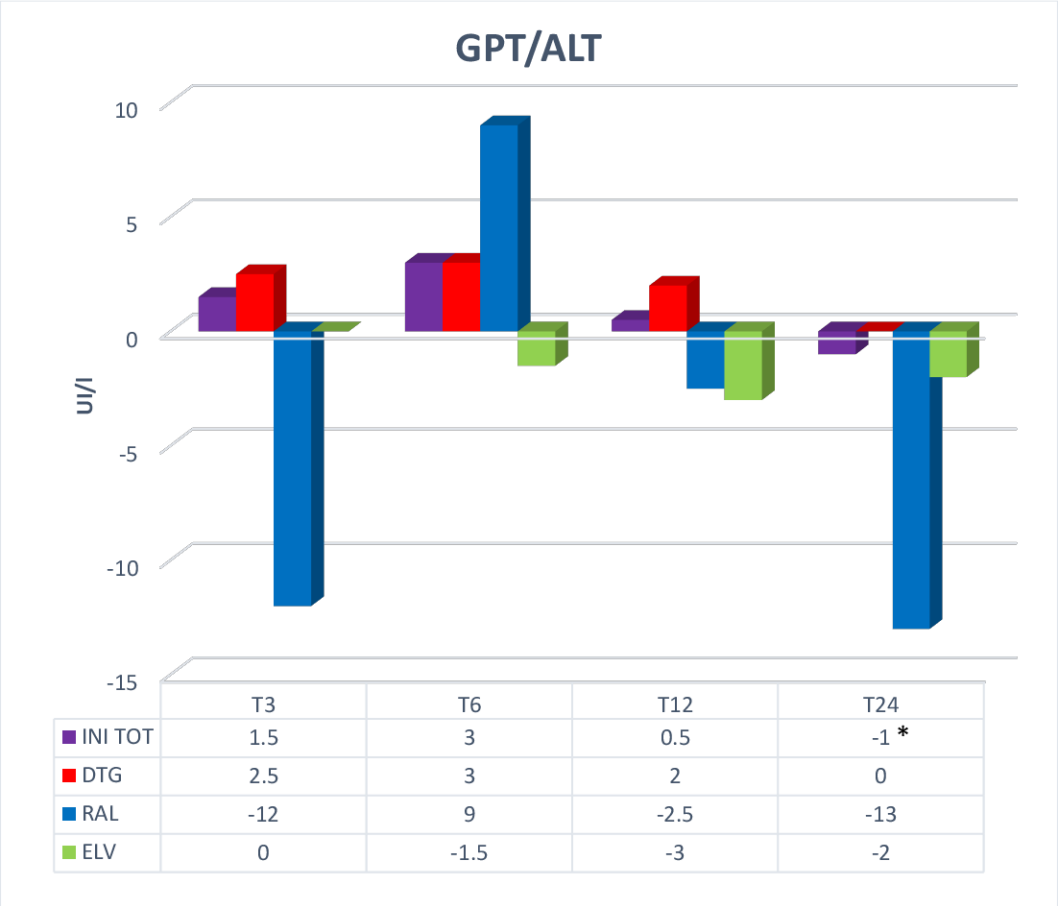
Per quanto riguarda il parametro GOT/AST, i valori normali sono 8 – 48 UI/l per gli uomini e 8 – 43 UI/l per le donne. Nella popolazione dello studio il valore mediano al T0 è pari a 22,5 UI/l e durante il follow-up non va incontro a delle modificazioni importanti, rimanendo invariato o aumentando di 1 UI/l al T3, T6 e T24 in modo statisticamente non significativo (rispettivamente p= 0.99, p= 0.85 e p= 0.15). Andando ad analizzare i risultati ottenuti dividendo la popolazione per i singoli gruppi di trattamento, si può notare che anche nei pazienti trattati con dolutegravir o elvitegravir non ci sono modificazioni importanti di questo parametro, mentre i pazienti che utilizzano raltegravir presentano delle riduzioni pari a 13 UI/l al T3 (p=0.06), a 2 UI/l al T6 (p= 0.28), a 4 UI/l al T12 (p= 0.13) e a 6 UI/l al T24 (p= 0.06) non statisticamente significative.

Il valore normale di GPT/ALT negli uomini è di 7 - 55 UI/l e nelle donne è di 7 – 45 UI/l. Nella popolazione presa in esame il valore mediano al momento dello switch è di 28 UI/l, quindi in un range di normalità, e durante il follow-up non va incontro a modificazioni degne di nota, ad eccezione della diminuzione pari a 1 UI/l al T24 statisticamente significativa (p= 0.02). Analogamente a quanto osservato per GOT/AST, dividendo i pazienti in gruppi in base al tipo di trattamento effettuato non vediamo modificazioni importanti in chi utilizza dolutegravir o elvitegravir, mentre i pazienti che utilizzano raltegravir presentano delle riduzioni importanti che raggiungono l'apice al T24, con una riduzione pari a 13 UI/l non statisticamente significativa (p= 0.07).



	T3	T6	T12	T24
INI TOT	1	1	0	1
DTG	1.5	1.5	2	2
RAL	-13	-2	-4	-6
ELV	2	0	-2	3

Grafico 18. Modificazione delle transaminasi GOT/AST durante il follow-up, diviso in base al tipo di trattamento effettuato. *p< 0.05



	T3	T6	T12	T24
INI TOT	1.5	3	0.5	-1 *
DTG	2.5	3	2	0
RAL	-12	9	-2.5	-13
ELV	0	-1.5	-3	-2

Grafico 19. Modificazione delle transaminasi GPT/ALT durante il follow-up, diviso in base al tipo di trattamento effettuato. *p< 0.05

4.3.8 Bilirubina

I valori di bilirubina totale nella popolazione adulta sono considerati normali se compresi nell'intervallo 0,3-1,0 mg/dl. Nella popolazione presa in considerazione in questo studio il valore mediano di bilirubina al momento dello switch è di 0,7 mg/dl e durante il follow up è andato incontro a miglioramento, con una riduzione di 0,1 mg/dl al T3 (p< 0.01), sempre di 0,1 mg/dl al T6 (p< 0.01), di 0,2 mg/dl al T12 (p< 0.01) e ancora di 0,1 mg/dl al T24 (p< 0.01) tutti statisticamente significativi.

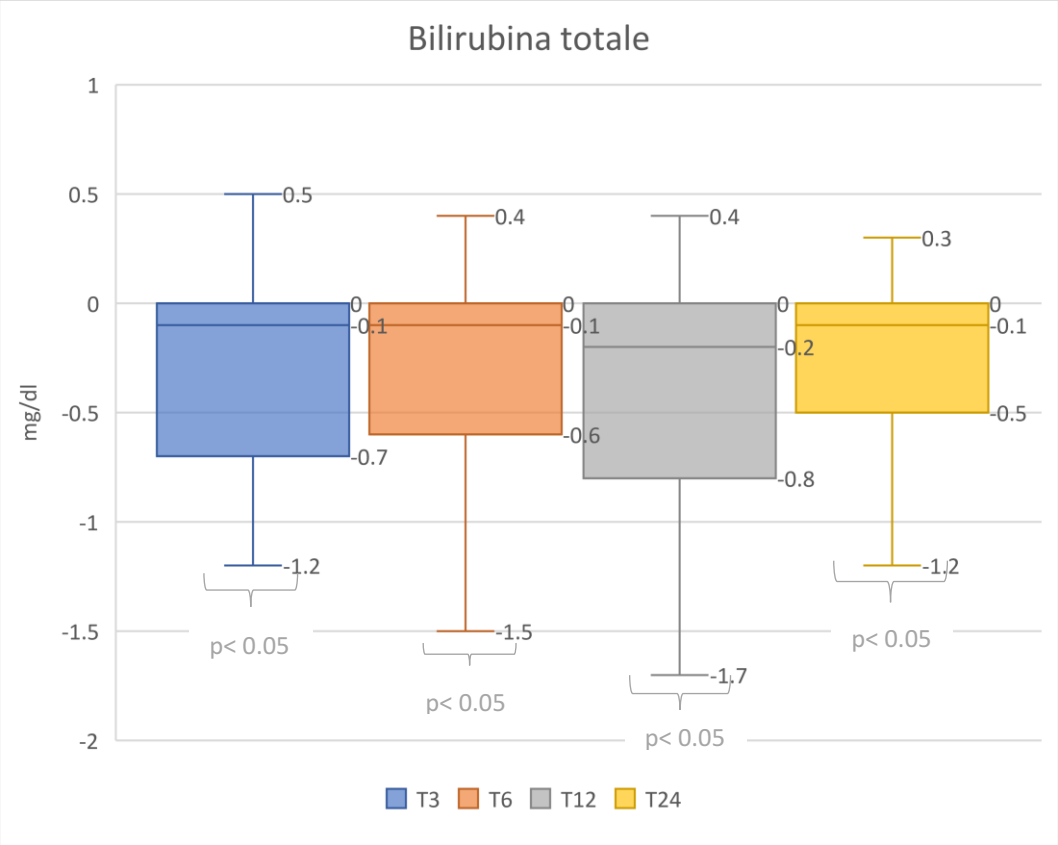
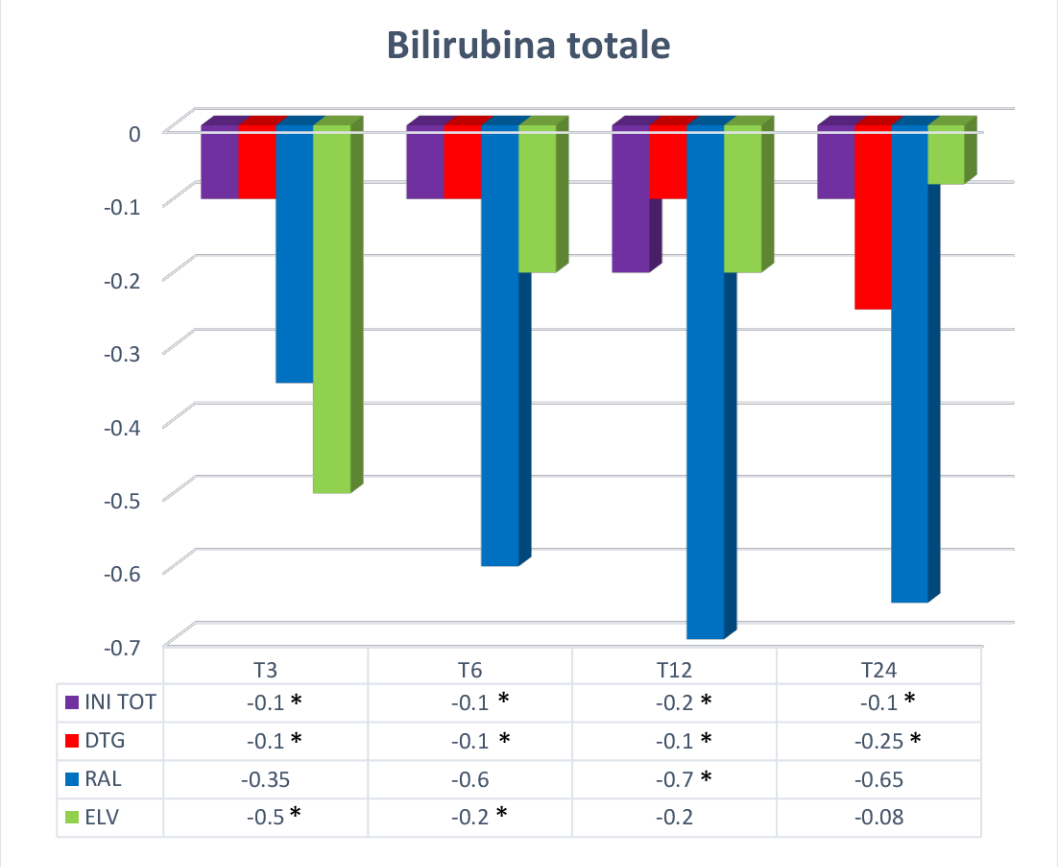


Grafico 20. Modificazioni del valore mediano della bilirubina totale al T3, T6, T12 e T24

Analizzando i risultati ottenuti dividendo i pazienti in gruppi in base al tipo di trattamento effettuato, si può notare come questa tendenza alla riduzione del valore di bilirubina totale sia comune a tutti i tipi di inibitori delle integrasi utilizzati. I pazienti in terapia con dolutegravir vanno incontro a una riduzione di 0,1 mg/dl al T3 (p< 0.01), al T6 (p< 0.01) e al T12 (p< 0.01), con una riduzione di 0,25 mg/dl al T24 (p< 0.01), tutte statisticamente significative. Chi utilizza raltegravir presenta delle riduzioni addirittura maggiori, corrispondenti a 0,35 mg/dl al T3 (p= 0.23), a 0,6 mg/dl al T6 (p= 0.06), a 0,7 mg/dl al T12 (p= 0.02) e a 0,65 al T24 (p= 0.07), tenendo però presente che i pazienti in trattamento con raltegravir presentavano un valore mediano di bilirubina totale più alto al momento dello switch, corrispondente a 1,1 mg/dl. Infine, anche i pazienti che utilizzano elvitegravir hanno una riduzione del valore di questo parametro, pari a 0,5 mg/dl al T3 (p= 0.02), a 0,2 mg/dl al T6 (p= 0.04), ancora a 0,2 mg/dl al T12 (p= 0.09) e a 0,08 mg/dl al T24 (p= 0.69).



	T3	T6	T12	T24
INI TOT	-0.1 *	-0.1 *	-0.2 *	-0.1 *
DTG	-0.1 *	-0.1 *	-0.1 *	-0.25 *
RAL	-0.35	-0.6	-0.7 *	-0.65
ELV	-0.5 *	-0.2 *	-0.2	-0.08

Grafico 21. Modificazione della bilirubina totale durante il follow-up, diviso in base al tipo di trattamento effettuato. *p< 0.05

4.3.9 Creatinina

La funzionalità renale è stata valutata tramite il dosaggio della creatinina, il cui range di normalità va da 0,84 a 1,21 mg/dl, sebbene questo intervallo possa variare leggermente tra i vari laboratori. Il valore mediano di creatinina ematica nella popolazione dello studio è di 0,87 mg/dl al momento dello switch, quindi perfettamente entro un range di normalità, e nessuno dei pazienti presenta una condizione di insufficienza renale. Durante il follow-up questo valore va incontro ad un peggioramento, con un aumento di 0,095 mg/dl al T3 ($p< 0.01$), di 0,09 mg/dl al T6 ($p< 0.01$), di 0,08 mg/dl al T12 ($p< 0.01$) e di 0,6 mg/dl al T24 ($p= 0.19$), con i primi tre aumenti che si presentano statisticamente significativi.

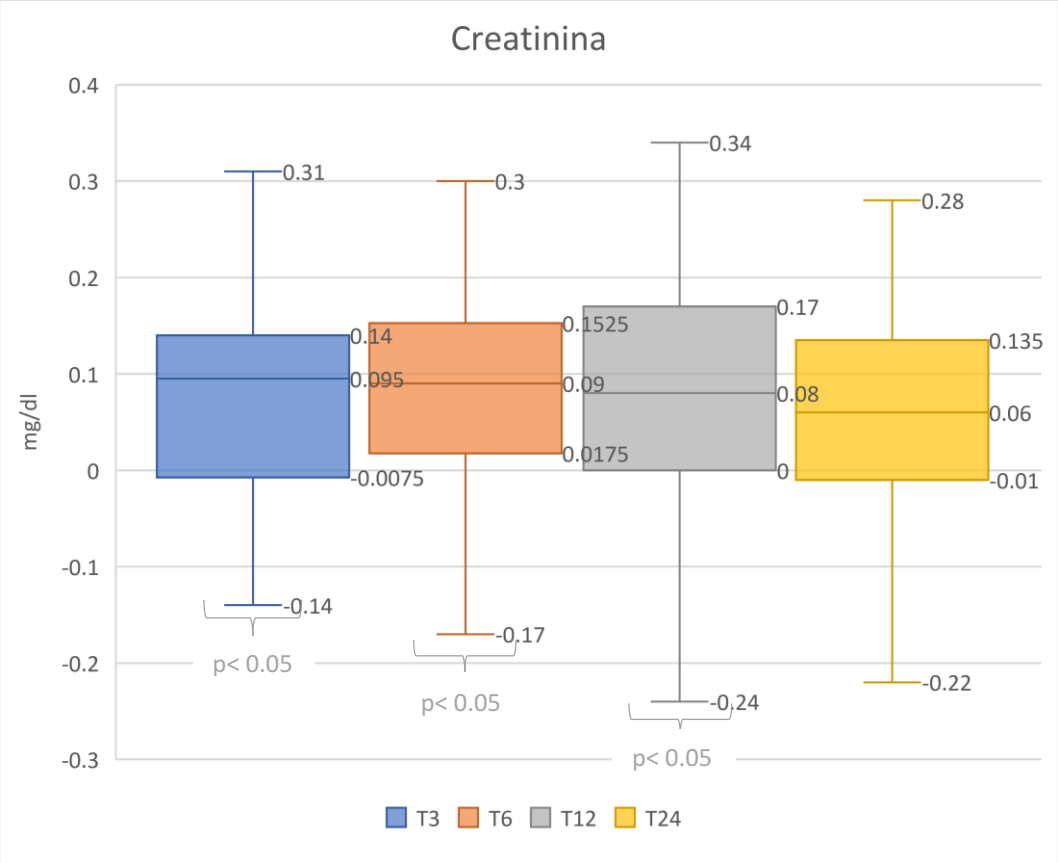
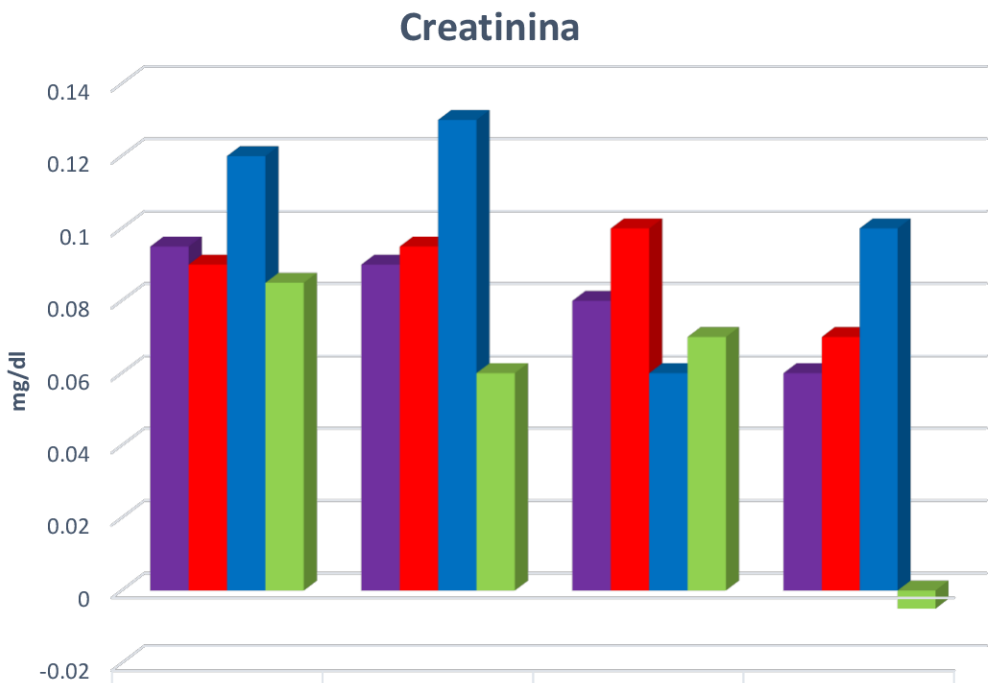


Grafico 22. Modificazioni del valore mediano di creatinina al T3, T6, T12 e T24

Anche dividendo la popolazione dello studio in base al tipo di farmaco utilizzato, si può confermare questa tendenza al peggioramento della funzionalità renale con un aumento limitato, ma statisticamente significativo, del valore mediano della creatinina. I pazienti in trattamento con dolutegravir presentano un aumento di 0,9 mg/dl al T3 (p= 0.01), di 0,095 mg/dl al T6 (p< 0.01), di 0,1 mg/dl al T12 (p< 0.01) e di 0,07 al T24 (p=0.16), mentre i pazienti con raltegravir presentano aumenti lievemente maggiori, corrispondenti a 0,12 mg/dl al T3 (p= 0.13), a 0,13 mg/dl al T6 (p= 0.01), a 0,06 mg/dl al T12 (p= 0.04) e a 0,1 mg/dl al T24 (p= 0.03). I risultati ottenuti nel gruppo di pazienti che utilizzano elvitegravir si discostano leggermente da quelli appena visti, in quanto le variazioni sono di entità minore e nessuna di queste si presenta statisticamente significativa. Inoltre, questo gruppo è l'unico in cui si assiste ad una diminuzione del valore mediano di creatinina ottenuta al T24 e pari a 0,005 mg/dl (p= 0.30).

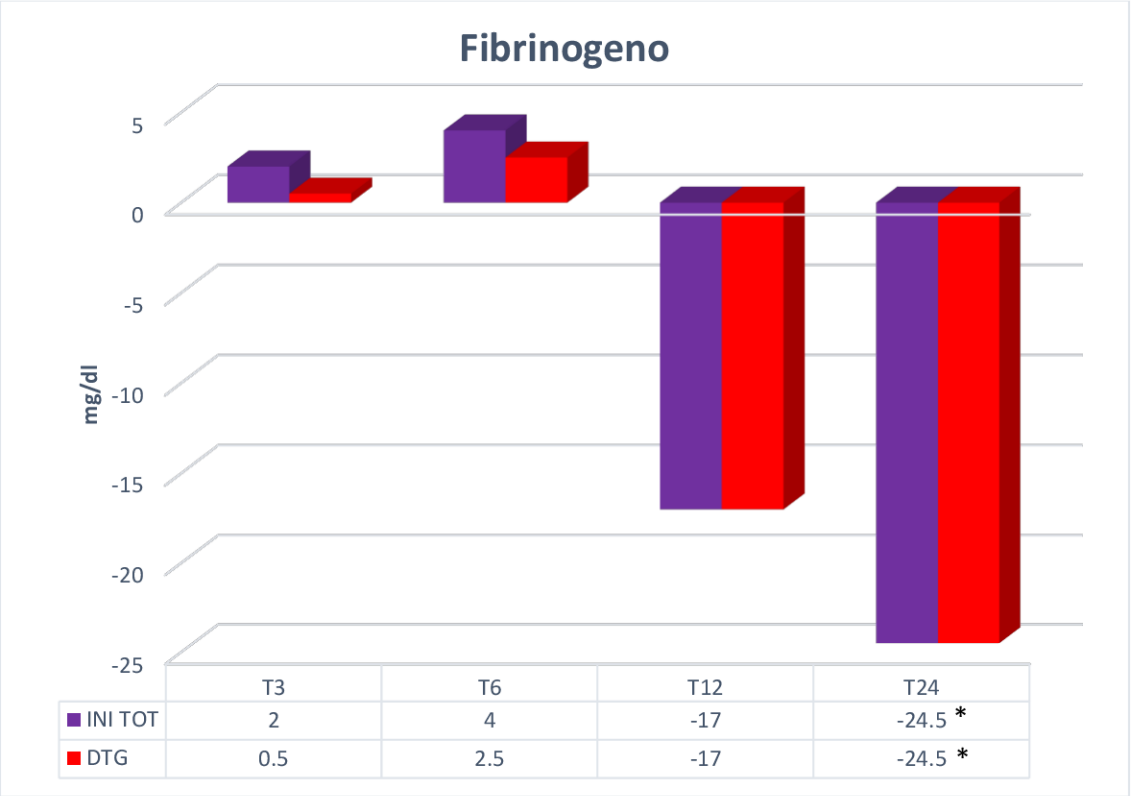


	T3	T6	T12	T24
INI TOT	0.095 *	0.09 *	0.08 *	0.06
DTG	0.09 *	0.095 *	0.1*	0.07
RAL	0.12	0.13 *	0.06 *	0.1 *
ELV	0.085	0.06	0.07	-0.005

Grafico 23. Modificazione della creatinina durante il follow-up, diviso in base al tipo di trattamento effettuato. *p< 0.05

4.3.10 Fibrinogeno

I valori normali di fibrinogeno ematico sono compresi tra i 200 e i 300 mg/dl. Nella popolazione presa in esame il valore mediano di fibrinogeno al momento dello switch si trova leggermente di sopra al range di normalità, essendo pari a 302,5 mg/dl. Durante il follow-up questo parametro va incontro ad un miglioramento, con una riduzione del valore mediano che raggiunge l'apice al T24 pari a 24,5 mg/dl, che si presenta statisticamente significativo (p= 0.03). Anche nei pazienti in trattamento con dolutegravir si assiste ad una riduzione statisticamente significativa al T24 (p= 0.03) ancora di 24,5 mg/dl, mentre per i pazienti trattati con elvitegravir e raltegravir non si hanno dati a disposizione, in quanto il fibrinogeno è un parametro che nei centri presi in considerazione per questo studio non viene misurato di routine e non si ha quindi per tutti i pazienti.



	T3	T6	T12	T24
INI TOT	2	4	-17	-24.5 *
DTG	0.5	2.5	-17	-24.5 *

Grafico 24. Modificazione del fibrinogeno durante il follow-up, diviso in base al tipo di trattamento effettuato. *p< 0.05

4.3.11 Peso corporeo

Nella popolazione presa in considerazione per questo studio, il valore mediano del peso corporeo al momento dello switch è pari a 73 kg e durante il follow-up non si verificano dei cambiamenti, con il valore mediano che rimane invariato ad eccezione di un aumento di 1 kg che si verifica al T24 non statisticamente significativo (p= 0.40). Analizzando i tre gruppi di pazienti, divisi in base all'inibitore delle integrasi utilizzato, si conferma la stabilità di questo parametro, con variazioni che oscillano tra +1,2 e -2 kg non statisticamente significative.

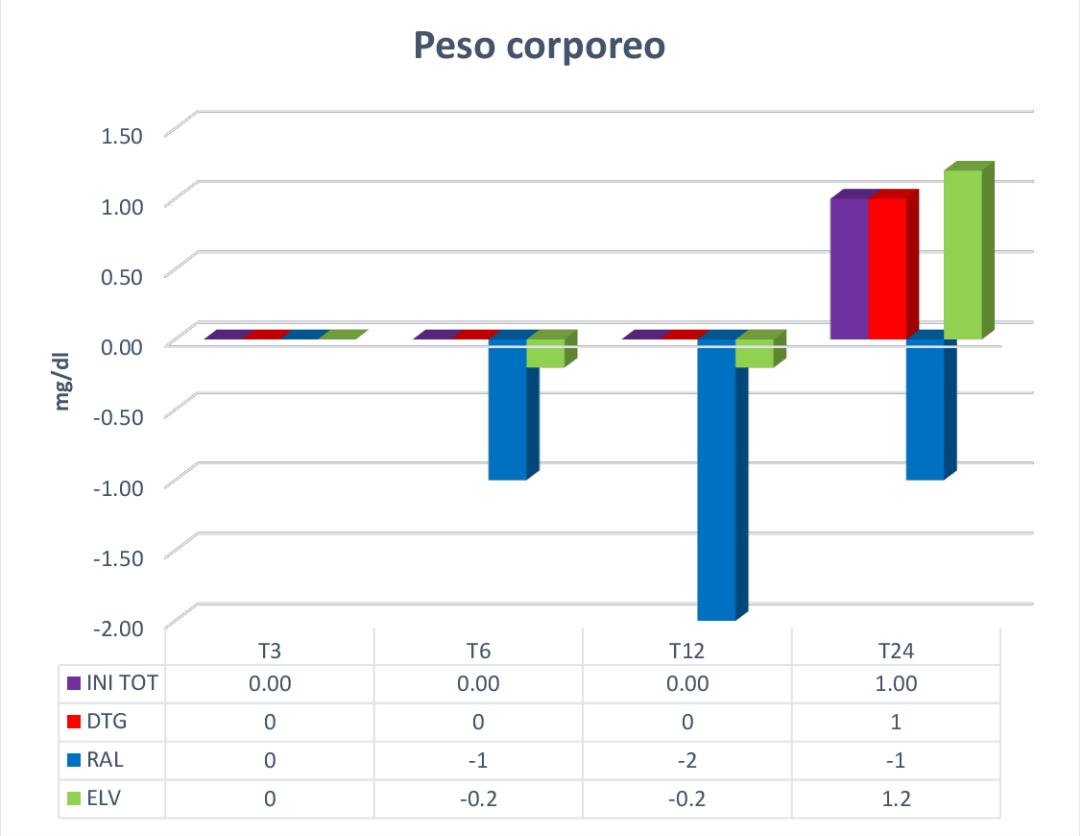
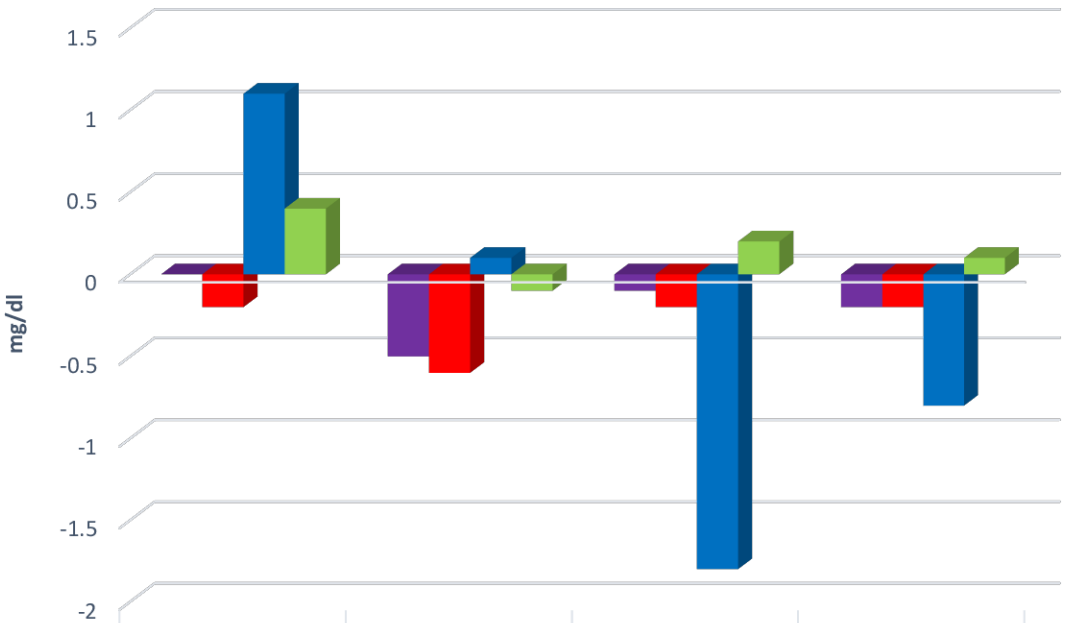


Grafico 25. Modificazione del peso corporeo durante il follow-up, diviso in base al tipo di trattamento effettuato. *p< 0.05

4.3.12 ACC/AHA score

Utilizzando l'ACC/AHA score, un paziente viene considerato a basso rischio di sviluppare un evento cardiovascolare nei successivi 10 anni se il risultato viene <5%, anche se sono considerati accettabili risultati compresi tra il 5 e il 7,4%. Nella popolazione inclusa in questo studio il valore mediano di questo score, calcolato al momento dello switch, è pari al 7,6% e quindi leggermente superiore al range di rischio considerato accettabile. Durante il follow-up si assistono a delle modeste riduzioni, pari a 0,5% al T6 (p= 0.30), a 0,1% al T12 (p= 0.81) e a 0,2% al T24 (p= 0.65), tutte statisticamente non significative. Delle modeste variazioni di questo score si hanno anche dividendo i pazienti in gruppi in base all'inibitore delle integrasi utilizzato, con delle variazioni comprese tra il +1,1 e il -1,8% che non si presentano in nessun caso statisticamente significative.



	T3	T6	T12	T24
INI TOT	0	-0.5	-0.1	-0.2
DTG	-0.2	-0.6	-0.2	-0.2
RAL	1.1	0.1	-1.8	-0.8
ELV	0.4	-0.1	0.2	0.1

Grafico 26. Modificazione dell' ACC/AHA score durante il follow-up, diviso in base al tipo di trattamento effettuato. *p< 0.05

Capitolo 5: DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Analizzando i dati ottenuti si può osservare come lo switch da un regime terapeutico basato su inibitori delle proteasi ad uno basato sugli inibitori delle integrasi possa rappresentare una soluzione vantaggiosa per i pazienti in terapia antiretrovirale cronica, visti i risultati ottenuti nel controllo dell'infezione e il minore impatto sul profilo metabolico.

Valutando i parametri immunovirologici si può evidenziare un buon controllo dell'infezione, con un aumento dei pazienti virosoppressi ed una ottimizzazione dei parametri immunologici, dimostrata da un incremento statisticamente significativo dei linfociti CD4+ al T24 e da un aumento della CD4% e del rapporto CD4/CD8.

Si assiste anche ad un miglioramento del profilo metabolico, in particolare del profilo lipidico, in cui si osservano delle riduzioni statisticamente significative del colesterolo totale, LDL e dei trigliceridi e un aumento del colesterolo HDL. Non si hanno invece modificazioni rilevanti della glicemia o della funzionalità epatica, ad eccezione di una riduzione significativa della bilirubinemia.

Inaspettatamente si riscontra un peggioramento della funzionalità renale testimoniata da un rialzo modesto, ma statisticamente significativo, del valore della creatinina. Questo potrebbe essere in parte spiegato dal fatto che si ha un lungo follow-up, della durata di circa due anni, durante il quale questi pazienti possono essere andati incontro ad un fisiologico peggioramento delle funzionalità renale associato all'invecchiamento. Non si evidenziano, invece, delle modificazioni importanti per quanto riguarda il peso.

Oltre a valutare l'impatto sul profilo metabolico, questo studio si pone l'obiettivo secondario di valutare se un miglioramento del quadro metabolico, e in particolare del profilo lipidico, si possa associare ad una riduzione del rischio cardiovascolare valutato mediante l'ACC/AHA score. In base ai risultati ottenuti si può osservare

che questo parametro durante il follow-up si mantiene sostanzialmente invariato, andando incontro a delle modeste riduzioni non statisticamente significative.

I risultati ottenuti sono anche stati valutati dividendo la popolazione dello studio in base al tipo di inibitore delle integrasi utilizzato, ottenendo quindi la divisione dei pazienti arruolati nello studio in tre gruppi a seconda del trattamento.

I pazienti in trattamento con dolutegravir e raltegravir mostrano dei risultati simili, con un miglioramento dei parametri immunologici e del profilo lipidico e un peggioramento della funzionalità renale, mentre la funzionalità epatica, la glicemia, il peso e il rischio cardiovascolare rimangono stabili, con minime variazioni.

I pazienti in terapia con elvitegravir presentano invece dei risultati diversi rispetto a quelli appena osservati con gli altri due inibitori delle integrasi, dove il dato sicuramente più rilevante riguarda il peggioramento del profilo lipidico con un aumento del colesterolo totale, LDL e dei trigliceridi. Questo aumento si associa probabilmente al fatto che elvitegravir viene somministrato in associazione con il booster, associazione non necessaria con gli altri inibitori delle integrasi. Il peggioramento del profilo lipidico non interessa però il colesterolo HDL, che va incontro ad un aumento significativo. Si può inoltre segnalare nei pazienti che utilizzano questo farmaco un minore impatto sulla funzionalità renale.

In conclusione, i risultati ottenuti confermano i dati della letteratura, che mettono in risalto il minore impatto sul profilo metabolico degli inibitori delle integrasi rispetto agli inibitori delle proteasi, anche se in definitiva queste riduzioni non sembrano incidere in modo significativo sul rischio cardiovascolare. Quindi, anche in questa categoria di pazienti, si deve quanto più possibile promuovere uno stile di vita sano e utilizzare dei trattamenti specifici, come l'impiego delle statine o di antiipertensivi, per il controllo di alcune comorbidità, al fine di ridurre la probabilità di incorrere in un evento cardiovascolare.

BIBLIOGRAFIA

1. Aounallah, M., Dagenais-Lussier, X., El-Far, M., Mehraj, V., Jenabian, M. A., Routy, J. P., & van Grevenynghe, J. (2016). Current topics in HIV pathogenesis, part 2: Inflammation drives a Warburg-like effect on the metabolism of HIV-infected subjects. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, *28*(2015), 1–10. https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2016.01.001
2. Arlaud, G. J., Gaboriaud, C., Thielens, N. M., & Rossi, V. (2002). Structural biology of C1. *Biochemical Society Transactions*, *30*(6), 1001–1006. https://doi.org/10.1042/BST0301001
3. Arnett, D. K., Blumenthal, R. S., Albert, M. A., Buroker, A. B., Goldberger, Z. D., Hahn, E. J., Himmelfarb, C. D., Khera, A., Lloyd-Jones, D., McEvoy, J. W., Michos, E. D., Miedema, M. D., Muñoz, D., Smith, S. C., Virani, S. S., Williams, K. A., Yeboah, J., & Ziaeian, B. (2019). 2019 ACC/AHA Guideline on the Primary Prevention of Cardiovascular Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. In *Circulation* (Vol. 140, Issue 11). https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000678
4. Arts, E. J., & Hazuda, D. J. (2012). HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *2*(4). https://doi.org/10.1101/cshperspect.a007161
5. Atta, M. G., De Seigneux, S., & Lucas, G. M. (2019). Clinical pharmacology in HIV therapy. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, *14*(3), 435–444. https://doi.org/10.2215/CJN.02240218
6. Bagella, P., Squillace, N., Ricci, E., Gulminetti, R., De Socio, G. V., Taramasso, L., Pellicanò, G., Menzaghi, B., Celesia, B. M., Dentone, C., Orofino, G., Bonfanti, P., & Madeddu, G. (2019). Lipid profile improvement in virologically suppressed hiv-1-infected patients switched to dolutegravir/ abacavir/lamivudine: Data from the SCOLTA project. *Infection and Drug Resistance*, *12*, 1385–1391. https://doi.org/10.2147/IDR.S203813
7. Barré-Sinoussi, F. (1996). HIV as the cause of AIDS. *Lancet*, *348*(9019), 31–35. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)09058-7
8. Bellosta, S., Corsini, A., Bellosta, S., & Corsini, A. (2018). Expert Opinion on Drug Safety Statin drug interactions and related adverse reactions : an update Statin drug interactions and related adverse reactions : an update. *Expert Opinion on Drug Safety*, *17*(1), 25–37. https://doi.org/10.1080/14740338.2018.1394455
9. Benjamin, L. A., & Bloomfield, G. S. (2019). *Charateristicts, Prevention; and Management of Cardiovascular Disease in People Living With HIV: A Scientific Statement From the American Heart Association.* https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000695
10. Bertoldi, A., De Crignis, E., Miserocchi, A., Bon, I., Musumeci, G., Longo, S., D'Urbano, V., La Manna, G., Calza, L., & Re, M. C. (2017). HIV and kidney: A dangerous liaison. *New Microbiologica*, *40*(1), 1–10.
11. Bourgi, K., Wanjalla, C., & Koethe, J. R. (2018). Inflammation and Metabolic Complications in HIV. *Current HIV/AIDS Reports*, *15*(5), 371–381. https://doi.org/10.1007/s11904-018-0411-2

12. Browne, S. H., Barford, K., Ramela, T., & Dowse, R. (2019). The impact of illustrated side effect information on understanding and sustained retention of antiretroviral side effect knowledge. *Research in Social and Administrative Pharmacy*, *15*(4), 469–473. https://doi.org/10.1016/j.sapharm.2018.05.012
13. Carr, A., Samaras, K., Burton, S., Law, M., Freund, J., Chisholm, D. J., & Cooper, D. A. (1998). A syndrome of peripheral lipodystrophy, hyperlipidaemia and insulin resistance in patients receiving HIV protease inhibitors. *Aids*, *12*(7), 51–58. https://doi.org/10.1097/00002030-199807000-00003
14. Chawla, A., Wang, C., Patton, C., Murray, M., Punekar, Y., de Ruiter, A., & Steinhart, C. (2018). A Review of Long-Term Toxicity of Antiretroviral Treatment Regimens and Implications for an Aging Population. *Infectious Diseases and Therapy*, *7*(2), 183–195. https://doi.org/10.1007/s40121-018-0201-6
15. Cihlar, T., & Fordyce, M. (2016). Current status and prospects of HIV treatment. *Current Opinion in Virology*, *18*, 50–56. https://doi.org/10.1016/j.coviro.2016.03.004
16. Cimarelli, A., & Darlix, J. L. (2014). HIV-1 reverse transcription. *Methods in Molecular Biology*, *1087*, 55–70. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-670-2_6
17. Clifford, G. M., & Franceschi, S. (2009). Cancer risk in HIV-infected persons: Influence of CD4+ count. *Future Oncology*, *5*(5), 669–678. https://doi.org/10.2217/fon.09.28
18. Daar, E. S. (2017). Novel approaches to HIV therapy. *F1000Research*, *6*(May), 1–7. https://doi.org/10.12688/f1000research.11164.1
19. Daar et al. (1993). Transient High Level of Viremia in Patients with Primary Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection. *New England Journal of Medicine*, *324*(14), 961–964. https://doi.org/10.1056/NEJM199309303291401
20. Das, K., & Arnold, E. (2013). HIV-1 reverse transcriptase and antiviral drug resistance. Part 1. *Current Opinion in Virology*, *3*(2), 111–118. https://doi.org/10.1016/j.coviro.2013.03.012
21. DAVID D. HO, M. D. (2013). Time to hit HIV, early and hard. *The New England Journal of Medicine*, *333*(7), 449–456.
22. Dionne, B. (2019). Key Principles of Antiretroviral Pharmacology. *Infectious Disease Clinics of North America*, *33*(3), 787–805. https://doi.org/10.1016/j.idc.2019.05.006
23. Dziuban, E. J., Raizes, E., & Koumans, E. H. (2015). A farewell to didanosine: harm reduction and cost savings by eliminating use of didanosine. *International Journal of STD and AIDS*, *26*(12), 903–906. https://doi.org/10.1177/0956462414554433
24. Effros, R. B., Fletcher, C. V., Gebo, K., Halter, J. B., Hazzard, W. R., Horne, F. M. F., Huebner, R. E., Janoff, E. N., Justice, A. C., Kuritzkes, D., Nayfield, S. G., Plaeger, S. F., Schmader, K. E., Ashworth, J. R., Campanelli, C., Clayton, C. P., Rada, B., Woolard, N. F., & High, K. P. (2008). Workshop on HIV infection and aging: What is known and future research directions. *Clinical Infectious Diseases*, *47*(4), 542–553. https://doi.org/10.1086/590150
25. Epstein, F. H., Pantaleo, G., Graziosi, C., & Fauci, A. S. (1993). Immunopathogenesis of Human Immunodeficiency Virus Infection. *New England Journal of Medicine*, *322*, 2012.

26. Eric S. Daar, M.D. (2007) Physical and Biochemical Changes in HIV Disease , MedicineNet
27. Eron, J. J., Young, B., Cooper, D. A., Youle, M., DeJesus, E., Andrade-Villanueva, J., Workman, C., Zajdenverg, R., Fätkenheuer, G., Berger, D. S., Kumar, P. N., Rodgers, A. J., Shaughnessy, M. A., Walker, M. L., Barnard, R. J., Miller, M. D., DiNubile, M. J., Nguyen, B. Y., Leavitt, R., … Sklar, P. (2010). Switch to a raltegravir-based regimen versus continuation of a lopinavir-ritonavir-based regimen in stable HIV-infected patients with suppressed viraemia (SWITCHMRK 1 and 2): two multicentre, double-blind, randomised controlled trials. *The Lancet*, *375*(9712), 396–407. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)62041-9
28. Esser, S., Helbig, D., Hillen, U., Dissemond, J., & Grabbe, S. (2007). HIV-therapie-assoziierte nebenwirkungen. *JDDG - Journal of the German Society of Dermatology*, *5*(9), 745–754. https://doi.org/10.1111/j.1610-0387.2007.06322.x
29. Fanales-Belasio et al. (2011). HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Ann Ist Super Sanità*, *47*(4), 363–372. https://doi.org/10.4415/ANN
30. Fauci, A. S., Pantaleo, G., Stanley, S., & Weissman, D. (1996). Immunopathogenic mechanisms of HIV infection. *Annals of Internal Medicine*, *124*(7), 654–663. https://doi.org/10.7326/0003-4819-124-7-199604010-00006
31. Freed, E. O. (2001). HIV-1 replication. *Somatic Cell and Molecular Genetics*, *26*(1–6), 13–33. https://doi.org/10.1023/A:1021070512287
32. Gallant. (1994). Prophylaxis for opportunistic infections in patients with human immunodeficiency virus. *Annals of Internal Medicine*, *120*(9 AUG), 932. https://doi.org/10.1016/s0399-077x(96)80028-x
33. Gatell, J. M., Assoumou, L., Moyle, G., Waters, L., Johnson, M., Fox, J., Martinez, E., Stellbrink, H. J., & Guaraldi, G. (n.d.). *Title : Authors : Correspondence to : Short title : Short summary : June 2018*. https://doi.org/10.1093/cid/ciy505/5038116
34. Gebhardt, A., & Fichtenbaum, C. J. (2019). Current pharmacotherapy for the treatment of dyslipidemia associated with HIV infection. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, *20*(14), 1719–1729. https://doi.org/10.1080/14656566.2019.1636033
35. Gervasoni, C., Cattaneo, D., Filice, C., & Galli, M. (2019). Drug-induced liver steatosis in patients with HIV infection. *Pharmacological Research*, *145*(May), 104267. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104267
36. Ghosn, J., Taiwo, B., Seedat, S., Autran, B., & Katlama, C. (2018). Seminar HIV. *The Lancet*, *392*(18), 685–697. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31311-4
37. Giuseppe Barbaro. (2007). Visceral Fat as Target of Highly Active Antiretroviral Therapy-Associated Metabolic Syndrome. *Current Pharmaceutical Design*, *13*(21), 2208–2213. https://doi.org/10.2174/138161207781039661
38. Global situation and trends of HIV in 2019 (WHO) - avaiable at https://www.who.int/gho/hiv/en/
39. Global HIV & AIDS statistics — 2020 fact sheet - avaiable at https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet
40. Gottlieb, M. S. (2006). Pneumocystis pneumonia--Los Angeles. 1981. *American Journal of Public Health*, *96*(6), 980–983. https://doi.org/10.2105/ajph.96.6.980

41. Gottlieb, M. S., Schroff, R., Schanker, H. M., Weisman, J. D., Fan, P. T., Wolf, R. A., & Saxon, A. (1981). Pneumocystis carinii Pneumonia and Mucosal Candidiasis in Previously Healthy Homosexual Men . *New England Journal of Medicine*, *305*(24), 1425–1431. https://doi.org/10.1056/nejm198112103052401
42. Greene, W. C. (2007). A history of AIDS: Looking back to see ahead. *European Journal of Immunology*, *37*(SUPPL. 1), 94–102. https://doi.org/10.1002/eji.200737441
43. Grove, J., & Marsh, M. (2011). The cell biology of receptor-mediated virus entry. *Journal of Cell Biology*, *195*(7), 1071–1082. https://doi.org/10.1083/jcb.201108131
44. Günthard, H. F., Saag, M. S., Benson, C. A., Del Rio, C., Eron, J. J., Gallant, J. E., Hoy, J. F., Mugavero, M. J., Sax, P. E., Thompson, M. A., Gandhi, R. T., Landovitz, R. J., Smith, D. M., Jacobsen, D. M., & Volberding, P. A. (2016). Antiretroviral drugs for treatment and prevention of HIV infection in Adults: 2016 recommendations of the international antiviral society-USA Panel. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, *316*(2), 191–210. https://doi.org/10.1001/jama.2016.8900
45. Haseltine. (1991). Molecular biology of the human immodeficiency virus type 1. *The FASEB Journal*, 2349–2360.
46. Hemelaar, J. (2012). The origin and diversity of the HIV-1 pandemic. *Trends in Molecular Medicine*, *18*(3), 182–192. https://doi.org/10.1016/j.molmed.2011.12.001
47. Hernandez-Romieu, A. C., Garg, S., Rosenberg, E. S., Thompson-Paul, A. M., & Skarbinski, J. (2017). Is diabetes prevalence higher among HIV-infected individuals compared with the general population? Evidence from MMP and NHANES 2009-2010. *BMJ Open Diabetes Research and Care*, *5*(1). https://doi.org/10.1136/bmjdrc-2016-000304
48. Hogan, C. A., Iles, J., Frost, E. H., Giroux, G., Cassar, O., Gessain, A., Dion, M. J., Ilunga, V., Rambaut, A., Yengo-Ki-Ngimbi, A. É., Behets, F., Pybus, O. G., & Pepin, J. (2016). Epidemic History and Iatrogenic Transmission of Blood-borne Viruses in Mid-20th Century Kinshasa. *Journal of Infectious Diseases*, *214*(3), 353–360. https://doi.org/10.1093/infdis/jiw009
49. Hymes, K. B., Greene, J. B., Marcus, A., William, D. C., Cheung, T., Prose, N. S., Ballard, H., & Laubenstein, L. J. (1981). Kaposi's sarcoma in homosexual men. A report of eight cases. *Lancet*, *318*(8247), 598–600. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(81)92740-9
50. Jiménez, Z., Sánchez-Conde, M., & Brañas, F. (2018). HIV infection as a cause of accelerated aging and frailty. *Revista Espanola de Geriatria y Gerontologia*, *53*(2), 105–110. https://doi.org/10.1016/j.regg.2017.04.007
51. Lagathu, C., Béréziat, V., Gorwood, J., Fellahi, S., Bastard, J. P., Vigouroux, C., Boccara, F., & Capeau, J. (2019). Metabolic complications affecting adipose tissue, lipid and glucose metabolism associated with HIV antiretroviral treatment. *Expert Opinion on Drug Safety*, *18*(9), 829–840. https://doi.org/10.1080/14740338.2019.1644317
52. Limone, P., Biglino, A., Valle, M., Degioanni, M., Servato, M. P., Berardi, C., Del Rizzo, P., Pellissetto, C., & Isaia, G. C. (2003). Insulin resistance in HIV-infected

patients: Relationship with pro-inflammatory cytokines released by peripheral leukocytes. *Journal of Infection*, *47*(1), 52–58. https://doi.org/10.1016/S0163-4453(03)00055-0
53. Looney. (2015). HIV Therapy—The State of ART. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, *37*(October), 1–29. https://doi.org/10.1007/82
54. Lundgren, J. D., Babiker, A. G., Gordin, F., Emery, S., Grund, B., Sharma, S., Avihingsanon, A., Cooper, D. A., Fätkenheuer, G., Llibre, J. M., Molina, J. M., Munderi, P., Schechter, M., Wood, R., Klingman, K. L., Collins, S., Clifford Lane, H., Phillips, A. N., & Neaton, J. D. (2015). Initiation of antiretroviral therapy in early asymptomatic HIV infection. *New England Journal of Medicine*, *373*(9), 795–807. https://doi.org/10.1056/NEJMoa1506816
55. Marlink, R., Kanki, P., Thior, I., Travers, K., Eisen, G., Siby, T., Traore, I., Hsieh, C. C., Dia, M. C., Gueye, E. H., Hellinger, J., Guèye-Ndiaye, A., Sankalé, J. L., Ndoye, I., Mboup, S., & Essex, M. (1994). Reduced rate of disease development after HIV-2 infection as compared to HIV-1. *Science*, *265*(5178), 1587–1590. https://doi.org/10.1126/science.7915856
56. Martinez, E., Larrousse, M., Llibre, J. M., Gutierrez, F., Saumoy, M., Antela, A., Knobel, H., Murillas, J., Berenguer, J., Pich, J., Pérez, I., & Gatell, J. M. (2010). Substitution of raltegravir for ritonavir-boosted protease inhibitors in HIV-infected patients: The SPIRAL study. *Aids*, *24*(11), 1697–1707. https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32833a608a
57. Martins, S., Ramos, M., & Fernandes, P. (2008). The Current Status of the NNRTI Family of Antiretrovirals Used Against HIV Infection. *Current Medicinal Chemistry*, *15*(11), 1083–1095. https://doi.org/10.2174/092986708784221467
58. Marzolini, C., & Livio, F. (2019). Prescribing issues in elderly individuals living with HIV. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, *12*(7), 643–659. https://doi.org/10.1080/17512433.2019.1627200
59. Masur, H., Michelis, M. A., Greene, J. B., Onorato, I., Vande Stouwe, R. A., Holzman, R. S., Wormser, G., Brettman, L., Lange, M., Murray, H. W., & Cunningham-Rundles, S. (1981). An Outbreak of Community-Acquired Pneumocystis carinii Pneumonia . *New England Journal of Medicine*, *305*(24), 1431–1438. https://doi.org/10.1056/nejm198112103052402
60. Mcleod, G. X., & Hammer, S. M. (1992). Zidovudine : Five Years Later. *Annals of Internal Medicine*, *1*, 117.
61. Miller, S. C. R. F., Post, F. A., Harding, R., Lucas, S. B., Figueroa, J., Harrison, I., Delpech, V. C., Dhoot, S., & Sullivan, A. K. (2019). *Cause of death among HIV patients in London in 2016*. 1–6. https://doi.org/10.1111/hiv.12761
62. Mindel, A., & Tenant-flowers, M. (2001). Natural history and management of early HIV infection Group I Primary HIV infection Group II Asymptomatic infection Group III Persistent generalised lymphadenopathy Group IV Symptomatic HIV infection before the development of AIDS. *Bmj*, *322*(May), 1290–1293.
63. Mirza, F. S., Luthra, P., & Chirch, L. (2018). Endocrinological aspects of HIV infection. *Journal of Endocrinological Investigation*, *41*(8), 881–899. https://doi.org/10.1007/s40618-017-0812-x
64. Morse, C. G., McLaughlin, M., Matthews, L., Proschan, M., Thomas, F., Gharib, A.

M., Abu-Asab, M., Orenstein, A., Engle, R. E., Hu, X., Lempicki, R., Hadigan, C., Kleiner, D. E., Heller, T., & Kovacs, J. A. (2015). Nonalcoholic steatohepatitis and hepatic fibrosis in HIV-1-monoinfected adults with elevated aminotransferase levels on antiretroviral therapy. *Clinical Infectious Diseases*, *60*(10), 1569–1578. https://doi.org/10.1093/cid/civ101

65. Moyle, G. (2007). Metabolic issues associated with protease inhibitors. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, *45*(SUPPL. 1), 19–26. https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31806007ed
66. Nolan, D. (2003). Metabolic Complications Associated with HIV Protease Inhibitor Therapy. *Drugs*, *63*(23), 2555–2574. https://doi.org/10.2165/00003495-200363230-00001
67. Notiziario dell'Iss (Volume 32 - Numero 10 2019) - Aggiornamento delle nuove diagnosi di infezione da HIV e dei casi di AIDS in Italia al 31 dicembre 2018
68. Noubissi, E. C., Katte, J. C., & Sobngwi, E. (2018). Diabetes and HIV. *Current Diabetes Reports*, *18*(11). https://doi.org/10.1007/s11892-018-1076-3
69. Palella, F. J., Delaney, K. M., Moorman, A. C., Loveless, M. O., Fuhrer, J., Satten, G. A., … Holmberg, S. D. (1998). Declining Morbidity and Mortality among Patients with Advanced Human Immunodeficiency Virus Infection. *New England Journal of Medicine*, 853–860.
70. Patel, P., Borkowf, C. B., Brooks, J. T., Lasry, A., Lansky, A., & Mermin, J. (2014). Estimating per-act HIV transmission risk: A systematic review. *Aids*, *28*(10), 1509–1519. https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000298
71. Pau, A. K., & George, J. M. (2014). Antiretroviral therapy: Current drugs. *Infectious Disease Clinics of North America*, *28*(3), 371–402. https://doi.org/10.1016/j.idc.2014.06.001
72. Pedersen, K. K., Pedersen, M., Trøseid, M., Gaardbo, J. C., Lund, T. T., Thomsen, C., Gerstoft, J., Kvale, D., & Nielsen, S. D. (2013). Microbial translocation in HIV infection is associated with dyslipidemia, insulin resistance, and risk of myocardial infarction. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, *64*(5), 425–433. https://doi.org/10.1097/QAI.0b013e31829f919d
73. Perry, C. M., & Balfour, J. A. (1996). *Didanosine*. *52*(6), 928–962.
74. Polsky, S., Floris-Moore, M., Schoenbaum, E. E., Klein, R. S., Arnsten, J. H., & Howard, A. A. (2011). Incident hyperglycaemia among older adults with or at-risk for HIV infection. *Antiviral Therapy*, *16*(2), 181–188. https://doi.org/10.3851/IMP1711
75. Prusiner, S. B. (2012). *No Title*. *1726*(2002). https://doi.org/10.1126/science.1079874
76. Queirós, C., & Da Costa, J. B. (2019). Oral transmission of sexually transmissable infections: A narrative review. *Acta Medica Portuguesa*, *32*(12), 776–781. https://doi.org/10.20344/amp.12191
77. Quinn, T. C. (1996). Global burden of the HIV pandemic. *Lancet*, *348*(9020), 99–106. https://doi.org/10.1016/S0140-6736(96)01029-X
78. Rodriguez, P. (2015). Executive summary of the consensus document on metabolic disorders and cardiovascular risk in patients with HIV infection. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, *33*(1), 41–47.

https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.05.018
79. Rubin, R. H., & Tolkoff-rubin, N. E. (1988). The problem of human immunodeficiency virus (HIV) infection and transplantation. *Transplant International,1*, 36–42.
80. Seitz, R. (2016). Human Immunodeficiency Virus (HIV). *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, *43*(3), 203–222. https://doi.org/10.1159/000445852
81. Sherman, K. E., Peters, M. G., & Thomas, D. L. (2019). HIV and the liver. *Topics in Antiviral Medicine*, *27*(3), 101–110.
82. Shibuyama, S., Gevorkyan, A., Yoo, U., Tim, S., Dzhangiryan, K., & Scott, J. (2006). Understanding and Avoiding Antiretroviral Adverse Events. *Current Pharmaceutical Design*, *12*(9), 1075–1090. https://doi.org/10.2174/138161206776055796
83. Srinivasa, S., & Grinspoon, S. K. (2014). Metabolic and body composition effects of newer antiretrovirals in HIV-infected patients. *European Journal of Endocrinology*, *170*(5). https://doi.org/10.1530/EJE-13-0967
84. Stoyanov, E., Gozlan, Y., Wax, M., Levin, E., Shvartz, L., Shinar, E., Mendelson, E., & Mor, O. (2019). HIV-1/2 screening in blood centers: implementing a two-step serological screening assay approach to reduce donor deferral. *Transfusion*, *59*(6), 2054–2060. https://doi.org/10.1111/trf.15245
85. Swingler, S., Morris, A., & Easton, A. (1994). Tumor Necrosis Factor α and Interleukin-1β Induce Specific Subunits of NF-κB to Bind the HIV-1 Enhancer: Characterization of Transcription Factors Controlling Human Immunodeficiency Virus Type 1 Gene Expression in Neural Cells. In *Biochemical and Biophysical Research Communications* (Vol. 203, Issue 1, pp. 623–630). https://doi.org/10.1006/bbrc.1994.2228
86. Teasdale, C. A., Marais, B. J., & Abrams, E. J. (2011). HIV: prevention of mother-to-child transmission. *BMJ Clinical Evidence*, *2011*(October 2009), 1–33.
87. Terwilliger, E. F., Sodroski, J. G., & Haseltine, W. A. (1990). Mechanisms of infectivity and replication of HIV-1 and implications for therapy. *Annals of Emergency Medicine*, *19*(3), 233–241. https://doi.org/10.1016/S0196-0644(05)82036-0
88. Tressler, R., & Godfrey, C. (2012). NRTI backbone in HIV treatment: Will it remain relevant? *Drugs*, *72*(16), 2051–2062. https://doi.org/10.2165/11640830-000000000-00000
89. Trickey, A., May, M. T., Vehreschild, J., Obel, N., & Gill, M. J. (2016). *Cause-Specific Mortality in HIV-Positive Patients Who Survived Ten Years after Starting Antiretroviral Therapy*. 1–16. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160460
90. Turner, B. G., & Summers, M. F. (1999). Structural biology of HIV 1 1Edited by P. E. Wright. Journal of Molecular Biology, 285(1), 1–32. doi:10.1006/jmbi.1998.2354
91. Tyagi, M., & Bukrinsky, M. (2012). Human immunodeficiency virus (HIV) latency: The major hurdle in HIV eradication. *Molecular Medicine*, *18*(7), 1096–1098. https://doi.org/10.2119/molmed.2012.00194
92. Vella, S., Schwartländer, B., Sow, S. P., Eholie, S. P., & Murphy, R. L. (2012). The history of antiretroviral therapy and of its implementation in resource-limited areas of the world. *Aids*, *26*(10), 1231–1241.

https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32835521a3
93. Wandeler, G., Johnson, L. F., & Egger, M. (2016). Trends in life expectancy of HIV-positive adults on antiretroviral therapy across the globe: Comparisons with general population. *Current Opinion in HIV and AIDS*, *11*(5), 492–500. https://doi.org/10.1097/COH.0000000000000298
94. Wang, Y., De Clercq, E., & Li, G. (2019). Current and emerging non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) for HIV-1 treatment. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*, *15*(10), 813–829. https://doi.org/10.1080/17425255.2019.1673367
95. Weiss, R. A. (2000). Getting to know HIV. *Tropical Medicine and International Health*, *5*(7). https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2000.00591.x
96. Yuan, Z., Kang, G., Daharsh, L., Fan, W., & Li, Q. (2018). SIVcpz closely related to the ancestral HIV-1 is less or non-pathogenic to humans in a hu-BLT mouse model article. *Emerging Microbes and Infections*, *7*(1), 413–416. https://doi.org/10.1038/s41426-018-0062-9
97. Zheng, Y. H., Lovsin, N., & Peterlin, B. M. (2005). Newly identified host factors modulate HIV replication. *Immunology Letters*, *97*(2 SPEC. ISS.), 225–234. https://doi.org/10.1016/j.imlet.2004.11.026

RINGRAZIAMENTI

Dopo tanti anni sono finalmente giunto alla fine di questo percorso e mi sembra doveroso esprimere due parole di ringraziamento per tutte quelle persone che mi hanno permesso di raggiungere questo traguardo.

Innanzitutto, ci tengo a ringraziare il mio relatore, il Prof. Andrea Giacometti, per avermi dato la possibilità di svolgere la tesi in Malattie Infettive e per essere sempre stato disponibile durante questi mesi, non mancando mai di darmi risposte celeri ed esaustive. Voglio anche ringraziare il mio correlatore, il Prof. Oscar Cirioni, e tutti i medici della clinica di Malattie Infettive dell'ospedale di Pesaro, e in particolare il Dott. Pasquini, per tutto l'aiuto datomi.

Grazie alla mia famiglia, soprattutto ai miei genitori Anna e Daniele, a mio fratello Marco, a mia zia Francesca e a mia cugina Chiara, per tutto l'incredibile sostegno che mi hanno dato per tutta la vita e in particolare per questi ultimi anni di Università. Grazie per il vostro aiuto, i vostri consigli, il vostro supporto, la vostra pazienza. Grazie per non avermi mai messo addosso alcun tipo di pressione e per aver messo spesso voi stessi in secondo piano pur di aiutarmi o di permettermi di avere la tranquillità per andare avanti in questo percorso. Questo traguardo è anche il vostro, per cui davvero grazie di cuore.

Grazie a Gloria, mia ragazza e spesso mia forza. Ci siamo conosciuti a metà dei nostri rispettivi percorsi universitari e durante questo periodo ci siamo sempre fatti forza a vicenda, aiutando l'altro nel momento del bisogno, sia per quanto riguarda l'Università, sia per la vita di tutti i giorni. Da quando stiamo insieme non mi sono mai immaginato con quella corona d'alloro in testa senza te al mio fianco, per cui anche a te dedico questo traguardo.

Grazie a Filo, Mica, Rai, Ga e Marco, miei compagni di corso, per questi anni trascorsi insieme. I tirocini, le lezioni, le ore interminabili all'università non sarebbero state così leggere se non ci foste stati voi. Grazie per le chiacchierate, le pause pranzo, le canzoni in macchina e tutti i momenti passati insieme. Un

ringraziamento speciale lo volevo però dedicare a Filo, che più tra tutti mi è stato vicino in questo percorso. Fortuna che sono riuscito a convincerti a non rimandare di un anno la tua immatricolazione, non so come avrei fatto senza le tue parole di incoraggiamento, il tuo aiuto e soprattutto senza i nostri interminabili vocali in cui parlavamo per ore di morose, calcio, fantacalcio e perché no, ogni tanto di Università. Sono davvero contento che arriviamo a questo traguardo insieme.

Grazie a Giulio e Pj, per essermi stati vicini fin da quando ci conosciamo, per il tempo passato insieme, per le cavolate che ci diciamo, ma soprattutto grazie per i pomeriggi passati insieme a divertirci a Parco Pacifico, le nostre gite a Brughiere o i nostri drink consumati nei bar di Moli Molesti. Naturalmente devo ringraziare a Pj anche per il supporto tecnico datomi per l'organizzazione di questo lavoro.

Volevo inoltre ringraziare anche tutti gli altri amici, i compagni di calcio e tutte le persone che mi hanno accompagnato durante questi anni, rendendomi più leggero e facile questo percorso.