

Validazione clinica di un test per la determinazione delle resistenze agli I.P.

Maurizia Debiaggi

(IV Corso Avanzato "Patogenesi, diagnosi e terapia dell'infezione-malattia da HIV",
Venezia Lido, 14-16 maggio 2001)

Studi clinici prospettici suggeriscono che l'utilizzazione dei test di resistenza genotipici e l'interpretazione dei risultati da parte di un team di esperti per le decisioni terapeutiche risulta in una migliore risposta virologica del paziente.

Anche gli studi retrospettivi hanno dimostrato che il numero delle mutazioni correlate agli inibitori delle proteasi (IP) ed agli inibitori della trascrittasi inversa (RT) sono predittive della risposta virologica ad una nuova terapia.

Mentre questi trials ci indicano che ci sono dei vantaggi nell'utilizzazione dei test genotipici nella pratica clinica, l'utilità degli stessi test è ad oggi ancora limitata

Non è possibile ad esempio, rilevare bassi livelli di RNA, le specie minoritarie presenti in meno del 20% della popolazione virale totale che possono avere resistenze clinicamente significative.

Esistono inoltre ancora pochi studi che indicano come il conoscere il profilo di mutazioni di un virus può essere utilizzato per selezionare con esattezza un nuovo regime terapeutico, specialmente per gli IP.

E' importante quindi studiare anche il fenotipo virale, misura diretta della sensibilità del virus ai vari farmaci.

Abbiamo iniziato uno studio per valutare l'utilità di un test geno-fenotipico per gli IP.

Lo studio è stato uno studio retrospettivo in cui si sono selezionati pazienti sottoposti a terapie di salvataggio, "non responder", pesantemente trattati con terapia HAART per almeno 2 anni, in cui si erano verificati da 2 a 3 fallimenti terapeutici; tutti erano stati sottoposti a cambiamenti di terapia antiretrovirale secondo schemi "standard of care".

Questi pazienti rappresentano un importante problema per il clinico e poiché il fenomeno della resistenza è un fenomeno continuo, è importante capire come insorge per poterlo prevenire o quantomeno limitare.

Abbiamo quindi voluto valutare in questi pazienti come avvenivano l'accumulo di mutazioni ed i cambiamenti di fenotipo nel tempo valutando il genotipo ed il fenotipo virale ad ogni fallimento/cambiamento di terapia.

L'analisi del genotipo nell'ultimo fallimento rivelava:

- nel gene RT la presenza da 4 a 12 mutazioni, in tutti i casi mutazioni primarie e associazioni descritte conferire un elevato grado di resistenza ai farmaci che il paziente stava assumendo
- nel gene Proteasi la presenza da 3 a 9 mutazioni in combinazioni descritte associate alla maggior parte degli inibitori (con l'eccezione di un caso)

Nei due anni precedenti la terapia era stata cambiata e, nei momenti di fallimento era stato di preferenza cambiato l'IP (in particolare al primo fallimento).

Abbiamo quindi valutato il genotipo ed il fenotipo virale ad ogni cambiamento di terapia.

Tutti i pazienti , al primo fallimento erano in terapia con AZT 3TD IDV (con una eccezione)
L'analisi del genotipo ha mostrato:

- nel gene RT la presenza di un numero esteso di mutazioni, da 3 a 9, in combinazioni riconosciute determinare un alto livello di resistenza ai farmaci in questione, queste comprendevano: 41,184, 215, 219,67, 210.
- Nel gene pro la presenza di un numero variabile di mutazioni, da 1 a 9, ed un profilo mutazionale altrettanto variabile. Le mutazioni più frequenti erano: 10, 46, 63, 82, 84, 90.

E' stato determinato il fenotipo nei confronti di IND, NELF, SAQ, RIT, AMP, LOP.

- 3 pz avevano un SI% per IND tra 60 e 98%
- 4 pz avevano un SI% per IND <60% (20-58)

Indipendentemente dalla sensibilità per IND , in 4 pazienti veniva rilevato un SI% tra 60 e 90% per almeno un IP diverso da IDV:

- Lop SI% 65%
- SAQ SI% 90%
- AMP SI% 90%
- SAQ, RIT, AMP >80%

In 3 pazienti si osservava un fenotipo resistente a tutti gli IP.

Negli schemi seguenti viene riportato l'andamento nel tempo dell'accumulo di mutazioni, delle variazioni del fenotipo con i relativi cambiamenti di terapia, 4 esempi:

paziente BM

- 1) Al primo fallimento con AZT 3TC IDV si ha il cambiamento di IDV con NFV , poi D4t ddi EFV; mancanza di risposta nel tempo
- 2) Nel gene RT viene rilevata resistenza per AZT e 3TC, le mutazioni si mantengono ed aumentano poi per l'isorgenza di quelle per EFV. Nel gene proteasi si ha inizialmente un numero modesto di mutazioni , queste aumento nel tempo con NFV.
- 3) Il fenotipo indica resistenza ad IDV ma anche a NFV e sensibilità per SAQ. Si osserva il decremento della sensibilità a tutti gli IP

Paziente CM

- 1) Al primo fallimento con AZT 3TC SQV (precedente terapia con IDV e prima ancora con NVP per brevi periodi), segue il cambiamento di SAQ con NFV ; mancanza di risposta
- 2) Nel gene RT si ha la presenza di mutazioni di resistenza ai farmaci utilizzati, nel gene proteasi la presenza di mutazioni come 90, 36, 46, descritte associate a resistenza a più IP.
- 3) Il Fenotipo indica resistenza a SQV ma anche a NFV sensibilità invece ad IND ed AMP.

Nei due esempi TC e MN, sono riportati casi di pazienti con profili di mutazioni sempre di resistenza per Inibitori di RT, e più mutazioni nel gene proteasi

Il fenotipo indica al 1° fallimento resistenza a tutti gli IP

COSIDERAZIONI 1

- NRTI ; le mutazioni presenti al 1° fallimento erano già responsabili di resistenza ai farmaci utilizzati
- Nei pazienti sensibili ad almeno un IP il cambiamento del farmaco impostato secondo schemi “standard of care”, portava ad utilizzarne uno nei confronti del quale erano presenti resistenze crociate
- In questi pazienti l’analisi del fenotipo ha evidenziato un decremento di sensibilità nei confronti di tutti gli IP.
- E’ utile saggiare l’attività di nuovi farmaci che non sempre, come Amprenavir e lopinavir possono essere attivi in questi pazienti.

CONSIDERAZIONI 2

D

- Necessità di effettuare i test ad ogni fallimento
- Necessità di effettuare i test il più precocemente possibile al primo fallimento
- Necessità di impostare terapie personalizzate.