

L'importanza del farmaco iniziale per combattere le resistenze:
cross-resistenza e i suoi effetti sulla terapia a lungo termine

11

1° CLASSIFICATO

L'importanza della scelta del farmaco giusto nell'approccio al bambino con infezioni multiple

Angela Aquilani, Veronica Santilli, Nadia Mora, Hyppolite Tchidjouku, Paolo Palma, Paolo Rossi, Stefania Bernardi

Unità di Immunoinfettivologia - Ospedale Pediatrico "Bambin Gesù", Roma

EAMM, bambino nato in Libia nel giugno 1998, è giunto alla nostra osservazione nel settembre del 2008 per febbre persistente da 2 mesi resistente alla terapia antibiotica e severa immunodepressione.

Dall'anamnesi patologica si evidenziava coinfezione da HBV-HCV e HIV contratta alla nascita in seguito a una trasfusione; ha sempre goduto di discrete condizioni di salute e buon controllo viro-immunologico rispetto all'infezione da HIV (CDC-A2) presentando un ritardo di crescita staturo-ponderale. Non ha mai assunto terapia antivirale.

Dal luglio 2008 comparsa di febbre ricorrente-remittente ogni 2-3 giorni con punte fino a 40°C. Da settembre 2009 la febbre ha assunto un andamento continuo-persistente. È stato trattato con cefotaxima e gentamicina per una settimana, se pur gli esami disponibili non hanno permesso un orientamento diagnostico; successivamente, data la mancata risposta al trattamento, veniva intrapresa terapia con ceftaximina e amikacina in associazione con aciclovir per altri 7 giorni.

All'ingresso le condizioni generali erano discrete. All'E.O. presentava micropoliadenia inguinale, fegato e milza di dimensioni nettamente aumentate (4 cm e 3 cm dall'arco, rispettivamente) e il restante esame obiettivo nei limiti della norma. I risultati dei principali esami di laboratorio mostravano: leucopenia (GB 2400), linfopenia (600-24,9%), anemia (Hb 7,9 g/dL) e aumento modesto degli indici di flogosi (PCR 1,42 mg/dL), funzionalità epatica nella norma.

Il fenotipo immunologico mostrava una severa immunodepressione con T CD3+ 60%, T CD4+ 2% (9 cell/mm³), T CD8+ 57%.

Gli esami virologici molecolari mostravano: HCV-load 440.000 copie/mL (genotipo 1a), HBV-load >100.000.000 copie/mL, HIV-load >500.000 copie/mL escludendo

altre possibili cause infettive di epatopatie, quali HHV6, HZV, HSV1-2, *Parvovirus* B19, CMV, EBV Toxoplasma e Leishmaniosi.

La sierologia per HBV evidenziava: HBsAg +, HBeAg -, HBeAb presenti, HBsAB assenti, HBcAb presenti, HBcIgM assenti.

Gli esami strumentali evidenziavano:

- Rx torace, accentuazione diffusa del disegno polmonare ma non focolai in atto;
- Ecografia addome superiore, fegato di dimensioni nettamente aumentate, con margine inferiore arrotondato, a eco struttura disomogenea e iperecogena, vie biliari non dilatate, tronco portale di calibro regolare;
- TC torace e addome superiore che confermavano le suddette alterazioni.

La situazione all'ingresso quindi delineava un quadro di immunodepressione severa in paziente con infezione da HIV, il cui sintomo principale era rappresentato dall'anemia con linfadenopatia.

Tra le cause più comuni di anemia severa e linfadenopatia nei pazienti HIV positivi prevalgono le infezioni, in particolare quelle micobatteriche.¹ Sulle base di questo sospetto abbiamo ricercato micobatteri tipici e atipici su sangue e midollo. L'esito positivo dell'esame colturale per *Mycobacterium Avium* (MAC) ha confermato i nostri sospetti.

Le linee guida per il trattamento delle infezioni da micobatteri atipici nei bambini HIV positivi prevedono una terapia combinata con un minimo di due farmaci antimicobatterici che includano claritromicina+etambutolo per ridurre il rischio di insorgenza delle resistenze;² studi sugli adulti inoltre hanno mostrato un vantaggio in termini di sopravvivenza con l'associazione di rifabutina. La durata minima del trattamento è di 6 mesi; per le forme disseminate anche un anno. Inoltre, dal momento che un miglioramento dello stato immunologico è indispensabile per il controllo della MAC disseminata, si raccomanda di iniziare un potente trattamento con antiretrovirali in pazienti *naïve*.

Sulla base delle suddette indicazioni veniva iniziata una terapia anti-micobatterica con etambutolo (500mg/die), rifabutina (200 mg/die), claritromicina (120 mg/bid) e levofloxacina (250 mg/bid) in associazione alla terapia profilattica con cotrimossazolo dato il basso numero di T CD4+. Tuttavia, per ridurre il rischio di una Sindrome da Immunoricostituzione (IRIS) si consiglia di iniziare la HAART almeno 2 settimane dopo l'avvio della terapia anti-micobatterica. Ovviamente la scelta dei farmaci antiretrovirali dovrà tenere in considerazione le possibili sfavorevoli interazioni farmacocinetiche legate all'uso concomitante dei farmaci antiretrovirali e

antitubercolari: in particolare l'uso di rifampicina, un potente induttore del sistema enzimatico CYP3A, preclude un trattamento antiretrovirale con Inibitore delle Proteasi (PI). È consentita invece l'associazione con un Inibitore non nucleotidico della Trascrittasi Inversa (NNRTI): tra questi efavirenz risulta il farmaco di scelta nei bambini con età > 3 anni.

Dopo circa 3 settimane, veniva iniziata la terapia antiretrovirale con efavirenz 350 mg (EFV) ed emtricitabina+tenofovir 1cp (TDF-FTC) sulla base anche delle indicazioni del test genotipico.

La scelta della terapia HAART, oltre alle limitazioni suddette legate all'interazione con i chemioterapici anti-micobatterici, è stata profondamente influenzata dalla contemporanea presenza delle infezioni HBV-HCV. Le coinfezioni con virus epatici possono ostacolare la riuscita della HAART incrementando il rischio di epatotossicità farmaco-legata e condizionando la scelta dei farmaci antiretrovirali per il rischio di cross-resistenze.^{3,4,5} D'altro canto si è visto che la progressione della malattia epatica è molto più rapida nella popolazione di pazienti HIV, con rischio di complicanze, incluso l'epatocarcinoma a un'età più giovane, rispetto alla popolazione generale.⁶

Di conseguenza un adeguato *management* delle epatiti B e C dovrebbe essere considerato di prioritaria importanza nei pazienti HIV positivi.

In particolare, il trattamento dell'HBV nei pazienti HIV è complesso in quanto i farmaci utilizzati sono spesso associati a resistenza, cross-resistenza, epatotossicità e risposta sub-ottimale.^{7,8} La comparsa di mutazioni è associata a parecchi fattori: virali, ospite-legati e farmacologici. Alti livelli sierici di HBV-DNA prima di iniziare il trattamento, bassa barriera genetica dei farmaci alla resistenza e scarsa compliance del paziente possono compromettere la risposta al trattamento dell'HBV causando la comparsa di mutazioni nella regione della trascrittasi inversa dell'HBV polimerasi con inevitabili ripercussioni negative sulla HAART.^{4,9}

Di conseguenza la scelta della terapia iniziale è fondamentale: un errore in questa fase potrebbe compromettere il successo terapeutico per entrambe le infezioni, riducendo drasticamente le opzioni terapeutiche successive. Al momento la migliore strategia terapeutica prevede l'utilizzo, a dosaggio pieno, di farmaci antivirali a elevata barriera genetica.^{4,5}

Inoltre, nelle coinfezioni HIV-HBV l'impostazione della terapia sarà diversa a seconda della necessità di trattare solo uno dei due virus o entrambi.

Il nostro paziente presentava un numero di T CD4+ (9 cell/mm³) ampiamente al di sotto da quello previsto dalle linee guida² per l'inizio della terapia antiretrovirale (>350) e quindi una chiara indicazione a iniziare immediatamente la HAART. La carica virale per HBV risultava >100.000.000 copie/mL, con HBeAg - e GOT 77 UI/L, GPT 40 UI/L: secondo le AASLD Practice Guidelines¹⁰ per il trattamento della epatite B, in pazienti HBeAg -, se le transaminasi sono normali e l'HBV-DNA è > 2000 copie/mL il trattamento non è indicato, tranne nel caso in cui la biopsia epatica mostri moderata/severa necro-infiammazione o fibrosi.¹¹ Tuttavia, considerata la complessità del quadro clinico del paziente per la presenza delle tre infezioni virali croniche, sulla base delle European AIDS Clinical Society (EACS) Guidelines per il *management* clinico e terapeutico delle coinfezioni HBV-HCV nei pazienti HIV⁷ abbiamo impostato una terapia HAART potenzialmente efficace sia verso l'HIV che l'HBV. Infatti secondo le linee guida EACS, se il numero di T CD4 è < 350/μL e l'HBV-DNA > 2000 copie/mL la HAART dovrebbe comprendere tenofovir+emtricitabina o tenofovir+lamivudina tra gli NRTI.⁷

Per evitare lo sviluppo di mutazioni del virus HBV nessuno di questi farmaci con attività anti-HBV dovrebbe essere utilizzato da solo nel regime antiretrovirale.^{2,7} L'uso di entecavir nei pazienti con infezione HBV-HIV dovrebbe essere utilizzato solo nei pazienti che assumono una terapia antiretrovirale efficace e controindicato in monoterapia per il rischio di selezionare mutanti HIV M184V che le conferirebbero resistenza verso lamivudina ed emtricitabina.¹¹

Per questi motivi la terapia del paziente era costituita da tenofovir+lamivudina (NRTI) con duplice azione anti-HIV e anti-HBV in associazione a efavirenz (NNRTI).

Per quanto riguarda l'infezione da HCV, secondo le linee guida europee,^{7,12} il trattamento è raccomandato solo per i pazienti con elevata probabilità di ottenere una risposta virologica sostenuta (SVR), con T CD4 > 200 cell/mm³ e infezione da HCV con genotipo 2 e 3.^{7,13} Infatti, trial clinici in pazienti con coinfezione HIV-HCV hanno mostrato, dopo 48 settimane di Peg-INF-α+ribavirina, una SVR nel 60-70% dei pazienti con genotipo HCV 2-3 e solo nel 15% dei pazienti con genotipo 1.²⁰ Nel nostro caso quindi abbiamo considerato prioritario iniziare la terapia HAART rispetto al trattamento dell'HCV.

La terapia antiretrovirale ha determinato una rapida e immediata riduzione della carica virale dell'HIV (da >500.000 copie/mL a 290 copie/mL in soli 2 mesi) con un lento incremento del numero dei linfociti CD4+. Tuttavia, a causa della persistenza della febbre con temperature fino a 39°C e il persistere di emocolture positive per

L'importanza del farmaco iniziale per combattere le resistenze:
cross-resistenza e i suoi effetti sulla terapia a lungo termine

15

Mycobacterium Avium si eseguiva un test di antibiotico-resistenza che mostrava la non efficacia *in vitro* della terapia per claritromicina, rifabutina ed etambutolo. Si sostituiva claritromicina con linezolid.

Dopo un mese di benessere ricompariva la temperatura febbrile associata a nausea, vomito e sudorazione profusa; veniva ricoverato per gli accertamenti e le cure del caso. All'E.O. presentava addome dolorabile, linfadenopatia generale e in particolare un linfonodo sovraclaveare sinistro di dimensioni aumentate (> 2 cm) e consistenza teso-elastica.

La diagnosi differenziale veniva posta tra: una recidiva dell'infezione da MAC o IRIS. Gli esami ematici eseguiti in quell'occasione mostravano una riduzione dell'Hb (7,9 gr/dL), con un basso numero di reticolociti e una severa linfopenia. Si discuteva con l'ematologo la necessità di eseguire Aspirato Midollare, che mostrava linee cellulari ben rappresentate, ipoplasia marcata della serie rossa come da insulto tossico. Le emocolture per aerobi, anaerobi e miceti; PCR per EBV, CMV, HSV1-2, HHV6, *Parvovirus B19*, ricerca della *Leishmania* risultavano negative. Contestualmente si evidenziava una netta riduzione dell'HBV-DNA (8400 copie/mL) e dell'HIV-load (<50 copie/mL) con una persistenza della replicazione HCV-RNA. Dal momento che le emocolture per micobatteri risultavano negative e gli esami strumentali mostravano la presenza di fenomeni necrotico-colliquativi in sede linfonodale-sovraclaveare, reperto caratteristico attribuibile a riattivazione del sistema immunitario, e il fenotipo T cellulare mostrava un aumento dei marker di attivazione, veniva fatta diagnosi di IRIS.

La IRIS rappresenta una potenziale complicanza della terapia antiretrovirale che compare generalmente entro 12 settimane dall'inizio della HAART, legata a uno sbilanciamento del sistema immune che determina una reazione infiammatoria patologica. È comunemente associata a infezioni latenti, occulte o pregresse: in un terzo dei casi sono implicate le infezioni da micobatteri.¹⁴ Attualmente, non esistono test di laboratorio e criteri diagnostici specifici per la IRIS, che rimane una diagnosi di esclusione. Tuttavia un basso numero di T CD4+ pre-HAART, una riduzione significativa >2log₁₀ dell'HIV-load entro i primi 12 mesi dall'inizio della terapia antiretrovirale e la presenza di una infezione disseminata sono considerati fattori di rischio per lo sviluppo di IRIS.¹⁵ Variazioni nel compartimento T cellulare, con una riduzione del rapporto tra le cellule T reg ad azione anti-infiammatoria e le cellule TH17 ad azione pro-infiammatoria, sono considerati indicatori di uno stato di iperattivazione del sistema immunitario in corso di IRIS responsabile dello sviluppo di una risposta infiammatoria esagerata ai patogeni.¹⁵

Si iniziava quindi terapia *long term* con corticosteroidi allo scopo di controllare la IRIS. Il bambino veniva dimesso dopo 2 mesi in buone condizioni cliniche.

Nei successivi controlli il bambino mostrava un miglioramento progressivo delle condizioni generali, persistente apiressia, riduzione dei valori di transaminasi, aumento dell'Hb, e un valore di T CD4 stabile intorno a valori di 18-20% (80-100 cell/mm³). Dopo 5 mesi di trattamento si sospendeva la terapia con linezolid.

Dopo 7 mesi dall'inizio della terapia HAART si raggiungeva la completa soppressione della replicazione sia dell'HIV che dell'HBV (PCR per HBV negativa), la PCR per HCV mostrava una netta riduzione rispetto ai valori di partenza (111.000 copie/mL).

Contemporaneamente, date le buone e stabili condizioni cliniche, si decideva di sospendere la terapia corticosteroidica. Attualmente, la terapia del bambino è costituita da tenofovir+emtricitabina+efavirenz, etambutolo, rifabutina e cotrimossazolo.

Sulla base delle indicazioni delle linee guida, rifabutina verrà sospesa solo quando si raggiungerà un valore di T CD4 > 100/mm³ per almeno 6 mesi; cotrimossazolo invece verrà interrotto dopo 6 mesi dal raggiungimento di un numero di T CD4 > 200/mm³.

Il trattamento della micobatteriosi e della IRIS richiede tempi prolungati con rischi elevatissimi di tossicità epatica in soggetto con coinfezione HBV-HCV in terapia antiretrovirale.¹⁶

Nel nostro caso le infezioni da HBV e HIV hanno risposto prontamente al trattamento con tenofovir dimostrando l'efficacia del farmaco¹⁷ e la sicurezza nella somministrazione *long term* per quanto riguarda lo sviluppo di resistenze anche in età pediatrica.¹⁸ Inoltre, il controllo della replicazione virale si è mantenuto nel tempo nonostante l'introduzione della terapia corticosteroidica a testimonianza del fatto che c'è un effetto farmaco-indotto piuttosto che immuno-mediato (Figura 1).

Per quanto riguarda l'HCV, si è registrato un aumento progressivo della replicazione associato all'incremento del numero di linfociti T e inversamente correlato all'HIV-load. A tale riguardo alcuni studi *in vitro* dimostrano che il virus dell'epatite C, prevalentemente epatotropico, in corso di infezione HIV è in grado di replicare nelle PBMCs in presenza dell'HIV.¹⁹ Di conseguenza un aumento del numero dei linfociti secondario all'immunoricostruzione, è stato seguito da un aumento transitorio della viremia HCV.

L'importanza del farmaco iniziale per combattere le resistenze:
cross-resistenza e i suoi effetti sulla terapia a lungo termine

17

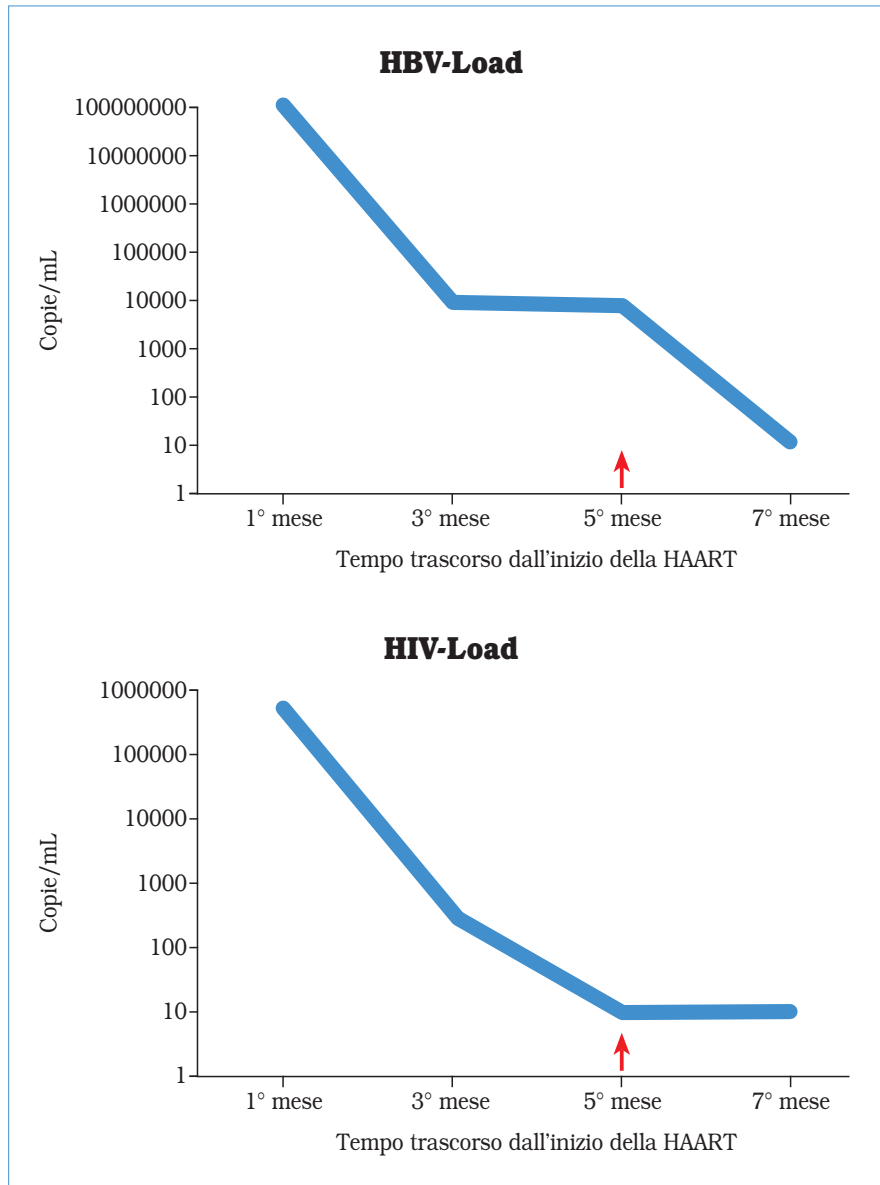


Figura 1. Progressiva riduzione della replicazione virale HIV-HBV nel tempo dopo l'introduzione della terapia antiretrovirale. La freccia rossa indica l'inizio della terapia corticosteroidica.

Il successo ottenuto in termini di replicazione virale sia per quanto riguarda l'HIV che l'HBV testimonia l'importanza della scelta del farmaco iniziale "giusto" per combattere le cross-resistenze. La terapia dovrebbe essere sempre individualizzata sulla base delle caratteristiche del paziente, prendendo in considerazione eventuali altre patologie in atto e soprattutto possibili sfavorevoli interazioni farmacocinetiche tra i farmaci somministrati contemporaneamente. L'insorgenza di una resistenza a un farmaco può rappresentare un evento drammatico, specie quando il numero di terapie a disposizione è limitato, come nel caso dell'HBV. In questo contesto tenofovir+emtricitabina si dimostra una scelta terapeutica di particolare interesse anche in età pediatrica.

Bibliografia

1. Job C.J Calis AIDS 2008,22:1099-1112
2. Guidelines for HIV-Infected Children. Sept 4, 2009 / Vol. 58 / No.RR-11
3. Sulkoski MS J.Hepatol 2008 Feb; 48(2):353-67. Epub 2007 Dec 4
4. Kumar R .Trop Gastroenterol. 2008 Jul-Sep 29(3):136-47
5. Zoulium F Gastroenterology.2009 Sep5
6. Vincent Soriano J.Antimicrobial Chemotherapy (2006) 57,815-818
7. EACS HIV Medicine(2008),9,82-88
8. Soriano V J HIV Ther Mar;14(1):13-8
9. WatcharasaK C Nat.Rev.Gastroenterol.Hepatol.6,453-462(2009)
10. De Francis R AASLD Practice Guidelines J Hepat 2003;39Suppl 1:S3-S25
11. Jain MK AIDS. 2007 Nov 12;21(17):2365-6.
12. Guidelines for HIV-1-Infected adults and Adolescent,November 3,2008
13. Soriano V AIDS. 2007 May 31;21(9):1073-89
14. Hans H. HIV/AIDS 2004;38:1159-66
15. Shuli Bonhan Biomark 2008;2(4):349-361.
16. James Riddell IV J. of Translation medicine 2007,5:50
17. Giaquinto C Clin Drug Investig 2007;27(8):509-31
18. J Audsley HIV Medicine (2009),10,229-235
19. M.S.Sulkowski J. of Viral hepatitis,2007,14,371-386
20. Sulkowski MD Clin Liver Dis.2003 Feb;7(1):179-94