

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI GENOVA

DOTTORATO DI RICERCA IN:

*METODOLOGIE INNOVATIVE APPLICATE A MALATTIE
TRASMISSIBILI E CRONICO-DEGENERATIVE:
EPIDEMIOLOGIA, STATISTICA, PREVENZIONE,
MANAGEMENT E NURSING - CURRICULUM
EPIDEMIOLOGIA, FISIOPATOLOGIA E GESTIONE
DIAGNOSTICO-CLINICA DELLE MALATTIE INFETTIVE
(XXXII CICLO).*



TESI DI DOTTORATO

*“AUMENTO DEGLI INDICI DI CITOLISI
EPATICA NEI SOGGETTI CON INFEZIONE DA
HIV CHE AVVIANO LA PRIMA LINEA DI
TRATTAMENTO ANTIRETROVIRALE: STUDIO
OSSERVAZIONALE DI COORTE”*

RELATORE

Prof. Antonio Di Biagio

CANDIDATO

Dott.ssa Lucia Taramasso

INDICE:

1. ABSTRACT
2. INTRODUZIONE
 - 2.1. Liver enzyme elevation (LEE)
 - 2.2. Sindrome da immunoricostituzione (IRIS) ed IRIS epatica
 - 2.3 Obiettivi dello studio
3. MATERIALI E METODI
 - 3.1. La Coorte ICONA
 - 3.2. Definizione di LEE
 - 3.3. Definizione di IRIS Epatica
 - 3.4. Raccolta dati
 - 3.5. Metodi statistici
 - 3.6. Approvazione dello studio
4. RISULTATI
 - 4.1. I pazienti
 - 4.2. Incidenza e fattori predittivi di LEE di grado ≥ 2
 - 4.3. Incidenza e fattori predittivi di LEE di grado ≥ 3
 - 4.4. Incidenza e fattori predittivi di LEE nei pazienti con valori di GGT nei limiti della norma al momento di avvio della terapia antiretrovirale
 - 4.3. Incidenza di IRIS epatica
5. DISCUSSIONE
 - 5.1. Interpretazione dei risultati
 - 5.2. Limiti dello Studio
 - 5.3. Conclusioni

6. ACKNOWLEDGEMENTS

7. APPENDICE

8. BIBLIOGRAFIA

1. ABSTRACT

Obiettivi: Valutare l'incidenza e i fattori di rischio per il rialzo degli enzimi di citolisi epatica (liver enzyme elevation, LEE) nei pazienti che iniziano una terapia antiretrovirale di prima linea (ART) nella coorte osservazionale prospettica ICONA.

Pazienti e metodi: sono stati selezionati per lo studio 6575 pazienti naive alla ART, che hanno iniziato, tra giugno 2009 e dicembre 2017, un regime terapeutico costituito da 2 inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa (NRTI) associati ad un inibitore della proteasi potenziato (PI/b) N=2436 (37.1%) e ad un inibitore non nucleosidico della trascrittasi inversa (NNRTI) N=2384 (36.3%), o ad un inibitore dell'integrasi (INSTI) N=755 (26.7%). La presenza di co-infezione da parte del virus dell'HBV (HBsAg positività) o dell'HCV (HCV-RNA positività) è stata rilevata nel 3.9% e nel 5.8% della popolazione dello studio. I LEE sono stati definiti come aumento di ALT o AST di ≥ 2.5 x ULN (limite superiore della normale) per i pazienti con valori di base nei limiti della norma o ≥ 2.5 x il valore basale, per i pazienti con valori di base $>ULN$. L'analisi di regressione *Cox inverse probability weighted* è stata utilizzata per calcolare gli hazard ratio (HR) ed i relativi intervalli di confidenza al 95% (95%CI) per LEE, sulla base del regime terapeutico di prima linea utilizzato e delle caratteristiche basali dei partecipanti allo studio.

Risultati: Durante un follow-up complessivo di 20722 anni di osservazione, si sono verificati 183 casi di LEE. Dopo l'aggiustamento

per i principali fattori confondenti, il rischio di LEE è risultato significativamente ridotto nei pazienti trattati con INSTI rispetto a coloro che ricevevano NNRTI (HR 0.46, 95%CI 0.25-0.86), con una significativa riduzione del rischio nel gruppo di pazienti trattati con raltegravir (HR 0.11, 95%CI 0.02-0.84, utilizzando la classe degli NNRTI come riferimento). L'HR per LEE è risultato significativamente più elevato nei soggetti con co-infezione da HBV o HCV, nei pazienti con infezione da HIV scarsamente controllata e in quelli che hanno contratto l'HIV attraverso la trasmissione omosessuale.

Conclusioni: Nel nostro studio, l'utilizzo di INSTI riduce del 54% il rischio di LEE rispetto ad altri regimi. Questo dato potrebbe essere particolarmente importante per la scelta dell'ART in pazienti con fattori di rischio per tossicità epatica come le co-infezioni HCV e HBV.

2. INTRODUZIONE

2.1. Liver enzymes elevation (LEE)

L'aumento degli indici di citolisi epatica (liver enzyme elevation, LEE) è un fenomeno di comune riscontro nell'ambito del follow-up dei pazienti che vivono con infezione cronica da virus dell'immunodeficienza umana (HIV), con un'incidenza stimata di circa 6.04 eventi per 100 pazienti-anno di follow-up (1). L'eziopatogenesi del fenomeno LEE è spesso multifattoriale nelle persone che vivono con l'infezione da HIV (PLWHIV), ed è frequentemente, anche se non invariabilmente, legata alla concomitante presenza di co-infezione da parte del virus dell'epatite B (HBV) o del virus dell'epatite C (HCV) (1,2). I farmaci che vengono utilizzati nel trattamento dell'infezione cronica da HIV, a loro volta, possono rivestire un ruolo rilevante nella genesi dei LEE ed è stato evidenziato, in passato, un potenziale epatotossico per farmaci antiretrovirali appartenenti a differenti classi. Molte molecole sono state collegate all'insorgenza di LEE (1,3-7), anche se i farmaci più recentemente immessi in commercio sembrano essere caratterizzati da un profilo di miglior tollerabilità epatica rispetto ai vecchi farmaci, vista la riduzione dell'incidenza di LEE a cui si è assistito negli anni più recenti (8). La comparsa di LEE in corso di ART influenza la gestione clinica e terapeutica del paziente, e costituisce un fenomeno clinicamente rilevante, visto l'aumento di mortalità da tutte le cause riportato nei pazienti con elevati livelli di alanina aminotransferasi (ALT) (9), e la ridotta sopravvivenza riportata nei pazienti con incremento di aspartato aminotransferasi (AST) durante il

corso della ART (10). Fra le cause che possono aver condotto a LEE, va sempre considerata la possibilità di una tossicità indotta dalla ART, soprattutto nei pazienti naive al trattamento, che sviluppano LEE dopo aver iniziato la prima linea di terapia. Per quanto riguarda gli inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa (NRTI), a cui appartengono i primi farmaci che sono stati sviluppati per il trattamento di HIV, diverse molecole hanno un dimostrato potenziale epatotossico, ad esempio vecchi farmaci della classe come la stavudina e la didanosina (1,3–7,11), ma un ruolo è stato anche ipotizzato per farmaci più recentemente introdotti nella pratica clinica come il tenofovir disoproxil fumarato (12). Anche per i farmaci appartenenti alla classe degli inibitori non nucleosidici (NNRTI) è stato studiato il potenziale epatotossico. La nevirapina è stato il primo NNRTI ad essere approvato per il trattamento dell'HIV, ed è a tutt'oggi un farmaco caratterizzato da una buona attività antivirale, ma il suo utilizzo è stato fortemente limitato proprio dal profilo di scarsa tollerabilità epatica (11,13–15). L'efavirenz è stato successivamente introdotto nella pratica clinica e, rispetto a nevirapina, ha dimostrato un miglior profilo di sicurezza epatico, pur non essendo esente da eventi avversi a tale livello (15,16). Meno dati sono invece disponibili sugli NNRTI di ultima generazione come rilpivirina ed etravirina, che sembrano tuttavia ben tollerati a livello epatico, con basso tasso di eventi avversi segnalati a tale livello in letteratura (17). Anche per gli inibitori delle proteasi (PI) è stata segnalata una potenziale epatotossicità, che contraddistingue in generale tutta la classe, e particolarmente evidente in pazienti trattati con vecchi farmaci come ritonavir ad elevato dosaggio (11,18),

saquinavir (18) e tipranavir (11), ma anche con altri farmaci appartenenti alla classe e di più recente introduzione nella pratica clinica (11,18,19). In questo contesto gli inibitori dell'integrasi (INSTI), la classe di farmaci antiretrovirali più recente e apparentemente caratterizzata dal miglior profilo di tollerabilità generale (20), vengono considerati farmaci con un profilo epatico sicuro (21–23). Tuttavia, proprio a causa della recente introduzione nella pratica clinica, ancora pochi dati sono disponibili, e soprattutto, mancano dati solidi derivati da studi osservazionali, dopo il superamento degli studi registrativi (21–23). Sebbene l'uso degli INSTI sia stato associato a un basso rischio di LEE nei maggiori trials clinici che hanno portato all'approvazione del loro utilizzo (24–32), negli ultimi anni sono emerse alcune sporadiche segnalazioni di tossicità epatica (22,33–35). Inoltre, sono disponibili pochi dati sulla tollerabilità degli INSTI nella popolazione di PLWHIV con co-infezione HBV o HCV, ed in particolare, pochi sono i dati che confrontano INSTI ed altre classi di terapia antiretrovirale (36,37).

2.2. Sindrome da immunoricostruzione (IRIS) e possibilità di IRIS epatica

Un altro dato da considerare analizzando le possibili cause di LEE è che una citolisi epatica, che si verifichi subito dopo l'inizio dell'ART in pazienti co-infetti con HBV o HCV, potrebbe essere espressione di un danno cellulare epatocitario immunomediato e secondario al recupero immunitario che avviene nelle prime settimane dopo l'inizio dell'ART

(38). Nei PLWHIV con profondo stato di immunodepressione, che abbiano sviluppato infezioni opportunistiche, è stato infatti segnalato, dopo l'avvio della ART, un peggioramento paradossale dei sintomi di tali infezioni, definito come sindrome da immunoricostruzione, o IRIS (39). L'IRIS è stata descritta come una intensa reazione infiammatoria nei confronti di alloantigeni, che avviene in seguito ad un recupero immunologico rapido (40) e che è associata ad un elevato burden di malattia e ad un basso nadir T-linfocitario CD4+ (41). Le segnalazioni di IRIS riportano dei tassi di incidenza variabili fra l'8% ed il 30% in differenti contesti clinici ed epidemiologici, nei pazienti ritenuti a rischio (39). L'IRIS è stata descritta principalmente in corso di infezioni opportunistiche, ma lo stesso meccanismo immunopatogenetico che sostiene la risposta infiammatoria paradossale nei confronti delle infezioni opportunistiche che si manifestano in corso di HIV potrebbe essere anche alla base di una risposta infiammatoria a livello epatico, nei PLWHIV con co-infezione da HBV o HCV.

La possibilità di una sindrome da immunocostituzione epatica è stata poco studiata in letteratura e la sua entità rimane in gran parte da chiarire. È stato ipotizzato che, a seguito dell'immunoricostruzione, il sistema immunitario dei PLWHIV, con co-infezioni da parte di virus epatitici, riconosca antigeni virali appartenenti ad HBV o HCV espressi sulle cellule epatiche, e sviluppi risposte immunitarie capaci di portare ad una necrosi epatocitaria, con conseguente rialzo degli indici di citolisi e quindi LEE (42–51), potenzialmente secondaria all'attività citotossica dei linfociti T CD8+ in corso di ART (42,52). Questo fenomeno potrebbe contribuire alla sierconversione con produzione di

anticorpi rivolti all'antigene s (HBsAg), all'antigene e (HBeAg) di HBV o anticorpi anti-HCV, e in alcuni casi addirittura alla clearance del virus epatitico a seguito dell'episodio di LEE (42,44,47,50). Alcuni lavori pubblicati in passato hanno ipotizzato un ruolo della ricostituzione immunitaria nell'insorgenza di LEE, poiché sono stati trovati tassi più elevati di LEE in pazienti con co-infezione HIV/HCV e HIV/HBV che avviavano la prima linea di terapia antiretrovirale rispetto a quelli riscontrati in pazienti con infezione da HIV e co-infezione con virus epatitici già in trattamento antiretrovirale che iniziassero un analogo trattamento in seconda linea (53). Inoltre, un maggiore recupero linfocitario è stato osservato in passato nei PLWHIV con co-infezione HBV/HCV che hanno sviluppato LEE dopo l'inizio della ART rispetto a coloro che non hanno sviluppato LEE (54). La possibilità di IRIS epatica è stata tuttavia poco studiata ad oggi e l'entità di tale fenomeno rimane in gran parte sconosciuta. Infatti, una diagnosi certa di IRIS costituisce sempre una prova difficile per il clinico, e lo è a maggior ragione quando si tratta di IRIS epatica, un'entità poco nota ed in diagnosi differenziale con le multiple possibili cause di LEE (farmaci antiretrovirali e non, consumo di alcool, concomitanti infezioni, epatopatie metaboliche, abuso di sostanze, non sempre dichiarato dal paziente). Trovare poi una correlazione tra una singola classe di farmaci e l'insorgenza di IRIS epatica potrebbe essere ancora più difficoltoso. Recenti segnalazioni hanno suggerito una correlazione fra l'insorgenza di IRIS e l'utilizzo degli INSTI, i quali grazie alla loro rapida azione di abbattimento della carica virale di HIV e del favorevole impatto sulla risalita dei CD4 potrebbero costituire un fattore di rischio

aggiuntivo per l'instaurarsi di una IRIS (55), anche se l'associazione non è stata confermata in un recente trial che ha valutato l'incidenza di IRIS in corso di tubercolosi nei PLWHIV trattati con o senza INSTI (56).

2.3. Obiettivi dello studio

Nel presente studio, proponiamo una definizione di IRIS epatica basata sulla revisione della letteratura e ci riproponiamo come obiettivo primario di valutare: a) la frequenza di LEE nei PLWHIV in trattamento di prima linea con differenti classi di farmaci antiretrovirali; b) quali siano gli elementi predittivi dello sviluppo di LEE. Obiettivo secondario dello studio è valutare quanti casi di LEE siano compatibili con una possibile diagnosi IRIS epatica, nei pazienti con nota co-infezione da parte di virus epatitici HCV o HBV, in trattamento di prima linea per l'infezione da HIV.

3. Materiali e Metodi

3.1. La coorte ICONA

La coorte ICONA (Italian Cohort Naive Antiretrovirals) è una coorte di studio multicentrica e osservazionale, che raccoglie prospetticamente i dati dei PLWHIV naïve alla ART. La coorte ICONA è stata avviata nel 1997 e prosegue a tutt'oggi la raccolta prospettica dei dati clinici e laboratoristici dei pazienti che avviano la prima linea di terapia antiretrovirale in Italia. Ad oggi, la coorte ha arruolato più di 17000 pazienti; sono attualmente attivi 52 centri in 37 città italiane distribuite

su tutto il territorio nazionale (57). ICONA raccoglie per ciascun paziente arruolato i dati a partire dalla data di ingresso nella coorte, (prima dell'avvio della ART) fino all'ultimo follow-up disponibile. A tutti i pazienti di età ≥ 18 anni che ricevono una nuova diagnosi di infezione da HIV e che sono in cura nei Centri di Malattie Infettive aderenti allo studio ICONA, viene proposto di partecipare alla coorte. I pazienti vengono successivamente arruolati, se esprimono la volontà ed il consenso a partecipare allo studio, firmando i moduli di consenso, in conformità con gli standard etici vigenti e con la Dichiarazione di Helsinki (revisione del 1983). I dati demografici, clinici, laboratoristici e le informazioni sulle terapie effettuate vengono raccolti e registrati online (57) in forma anonima. I dettagli della coorte sono già stati descritti e pubblicati in precedenza (58). I soggetti arruolati nella coorte ICONA sono generalmente rappresentativi della popolazione italiana che vive con l'infezione da HIV (59). Per il nostro studio abbiamo deciso di includere nell'analisi tutti i PLWHIV che hanno iniziato la prima linea di terapia antiretrovirale dal 1° gennaio 2009, con 2 inibitori nucleotidici della trascrittasi inversa (NRTI) più un inibitore della proteasi potenziato con ritonavir oppure con il cobicistat (PI/b), un inibitore della trascrittasi inversa non nucleosidico (NNRTI) o un INSTI.

I pazienti sono stati inclusi se non erano mai stati esposti in precedenza alla ART e se avevano un valore AST o ALT disponibile sia al basale (all'avvio della terapia di prima linea) che ad almeno una valutazione successiva all'inizio dell'ART. La Tabella 1 contiene il confronto delle caratteristiche basali dei 6575 pazienti selezionati per lo studio e dei

2048 pazienti esclusi, che hanno iniziato l'ART dopo il 1° gennaio 2009.

Tabella 1: Confronto fra le caratteristiche basali dei 6575 pazienti partecipanti allo studio e dei 2048 pazienti esclusi dall'analisi, sul totale di 8623 pazienti che hanno avviato la terapia antiretrovirale di prima linea dopo il 1°Gennaio 2009 nell'ambito della coorte ICONA. Abbreviazioni. HBsAg: Hepatitis B surface Antigen; HCV: hepatitis C virus; CD4; linfociti T CD4+; TDF+FTC: tenofovir+emtricitabina; NNRTI inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa; PI/b inibitori della proteasi potenziati; INSTI: inibitori dell'integrasi.

	Pazienti inclusi nello studio N=6575	Pazienti esclusi dallo studio N=2048	p-value
Fattore di rischio per HIV			
eterosessuale	2553 (38.8%)	809 (39.5%)	0.173
tossicodipendenza	465 (7.1%)	119 (5.8%)	
omosessuale	3045 (46.3%)	945 (46.2%)	
Altro/non noto	512 (7.8%)	175 (8.5%)	
HBsAg			
negativo	5010 (76.2%)	1284 (62.7%)	<0.001
positivo	253 (3.9%)	50 (2.4%)	
non noto	1312 (19.9%)	714 (34.9%)	
HCVAb			
HCVAb -	5131 (78.0%)	1359 (78.3%)	<0.001
HCVAb+	571 (8.7%)	514 (7.8%)	
non noto	873 (13.3%)	912 (13.9%)	
CD4 cell/mm³			
<200	1733 (26.4%)	644 (31.5%)	<0.001
201-350	1611 (24.5%)	415 (20.3%)	
351-500	1610 (24.5%)	379 (18.5%)	

	500+	1362 (20.7%)	399 (19.5%)	
	non noto	259 (3.9%)	211 (10.2%)	
HIV RNA, log₁₀ copie/mL				
	≤5	4045 (61.5%)	985 (48.1%)	<0.001
	>5	2243 (34.1%)	844 (41.2%)	
	non noto	287 (4.4%)	219 (10.7%)	
Alcool				
	nessuna assunzione	2479 (37.7%)	619 (30.2%)	<0.001
	assunzione occasionale	1634 (24.8%)	420 (20.5%)	
	assunzione quotidiana	479 (7.3%)	131 (6.4%)	
	non noto	1983 (30.2%)	878 (42.9%)	
Comorbidità note		41 (0.6%)	29 (1.4%)	<0.001
Terapie concomitanti		1233 (18.8%)	449 (21.9%)	0.002
NRTI				
	TDF+FTC	5391 (82.0%)	1306 (63.8%)	<0.001
	altro	1184 (18.0%)	742 (36.2%)	
Classe di farmaci ART				
	NNRTI	2384 (36.3%)	375 (18.4%)	<0.001
	PI/b	2436 (37.0%)	408 (19.9%)	
	INSTI	1755 (26.7%)	607 (29.6%)	
	altro	0 (0%)	658 (32.1%)	

3.2. Definizione di LEE

L'aumento delle transaminasi (ALT e AST) viene abitualmente classificato con una scala di gravità che varia dal grado 1 (alterazione lieve), fino al grado 4 (alterazione grave). La presenza di LEE è stata definita nel nostro studio come un aumento di ALT o AST di grado ≥ 2 , cioè $\geq 2.5 \times \text{ULN}$ (limite superiore della norma) per i pazienti con ALT basale nell'intervallo di normalità o $\geq 2.5 \times$ valore basale, se il valore basale era superiore a ULN (15). Il grado 3 LEE è stato definito come un rialzo di ALT o AST a $> 5 \times \text{ULN}$ per pazienti con ALT o AST basali nell'intervallo di normalità o $> 3.5 \times$ valore basale, se il valore basale era superiore a ULN; il grado 4 LEE è stato definito come

un aumento di ALT o AST $> 10 \times$ ULN per i pazienti con ALT o AST basale nell'intervallo di normalità o $> 5 \times$ valore basale se il valore basale era superiore a ULN (15). Il limite superiore della norma (ULN) di ALT e AST è stato considerato di 19 U/L nelle pazienti di sesso femminile e 30 U/L nei pazienti di sesso maschile (60).

3.3. Definizione di IRIS epatica

La diagnosi di IRIS epatica è spesso una diagnosi di esclusione, che manca di criteri netti di definizione. Allo scopo di delineare le caratteristiche più comunemente riscontrate in corso di IRIS epatica, abbiamo effettuato una revisione della letteratura utilizzando le seguenti chiavi di ricerca sul motore di ricerca PubMed (61): [HIV+IRIS] o [HIV+HBV+IRIS] o [HIV+HCV+IRIS] o [HIV+HCV+IRIS] o [hepatic immune reconstitution]. Abbiamo considerato per questa revisione tutti i casi descritti in pazienti affetti da HIV con a) HCV-RNA positivo o HBsAg positivo al momento dell'inizio della ART; b) aumento ≥ 5 volte dell'alanina aminotransferasi (ALT), o aumento dell'ALT fino a $\geq 5 \times$ Upper Normal Limit (UNL), o biopsia epatica che dimostra la necrosi epatica con alto numero di linfociti T CD8+ a livello epatico, in assenza di eosinofilia e/o granulomi. I criteri di esclusione sono stati: a) dimostrata resistenza di HBV alla terapia antivirale in atto; b) diagnosi di HBsAg positività temporalmente successiva all'avvio della ART in pazienti HBcAb positivi; c) mancata efficacia/incongrua assunzione della ART, definite da livelli di HIV-RNA al momento della diagnosi di LEE più elevati rispetto a quelli evidenziati all'inizio della ART; d) evidenza di tossicità

da farmaco dimostrata alla biopsia epatica o probabile tossicità da farmaco sulla base dell'andamento clinico del paziente dopo sospensione del farmaco e del giudizio dell'autore del report. Gli studi disponibili in letteratura che soddisfino i criteri sopracitati sono in tutto dieci lavori, che descrivono un totale di 23 pazienti con possibile IRIS epatica (42–51). Le caratteristiche temporali di insorgenza di IRIS epatica, le dinamiche di risalita dei linfociti T CD4+ e la cinetica di riduzione dell'HIV-RNA riportate in questi studi sono stati riassunti nella Tabella 2 (42–51). Sulla base di queste caratteristiche, l'IRIS epatica è stata definita come l'insorgenza di LEE in concomitanza di un decadimento della carica virale HIV-RNA di almeno $2.85 \log_{10}$ in totale o di almeno $1 \log_{10}$ /mese di ART, unitamente ad una risalita della conta linfocitaria T CD4+ pari almeno a 125 cellule/mm^3 , o maggiore, nei PLWHIV con confermata diagnosi di co-infezione HBV (HBsAg positività) o HCV (HCV-RNA positività) e che avevano al momento dell'avvio della ART una conta linfocitaria T CD4 $< 350 \text{ cellule/mm}^3$. Solo gli eventi occorsi nei primi 6 mesi di terapia sono stati considerati compatibili con IRIS epatica.

3.4 Raccolta dati

Le principali variabili confondenti che sono state controllate analiticamente sono: modalità di trasmissione dell'HIV (contatti eterosessuali o omosessuali, tossicodipendenza per via endovenosa, altro/sconosciuto), co-infezione da HBV (definita da HBsAg positivo, negativo, non testato), e co-infezione da HCV (combinazione di HCV-

Ab positivo/negativo o non testato e carica virale HCV-RNA rilevabile, non rilevabile o non testata), uso di tenofovir/emtricitabina come backbone terapeutico. Le ulteriori covariate che sono state incluse e

Tabella 2: Sinossi dei casi di sindrome da immunoricostruzione epatica dopo l'avvio del trattamento antiretrovirale pubblicati in letteratura. Rif Biblio: riferimento bibliografico; Δ : delta rispetto al basale; nd: non disponibile; ART: terapia antiretrovirale.

Rif. Biblio	co-infezione	N casi	Manifestazione clinica	Gior ni di ART	CD4 basa li	CD4 all' IRIS	Δ CD4	HIV-RNA basale (log)	HIV-RNA all' IRIS (log)	Δ HIV (log)	Δ HIV log/mese
(42)	HCV	Caso 1	Epatite ALT > 5xUNL)	56	32	138	106	5.45	2.6	2.85	2.85
(42)	HCV	Caso 2	Epatite (ALT > 5xUNL)	120	266	416	150	nd	-2	2	2
(42)	HCV	Caso 3	Epatite (ALT > 5xUNL)	56	14	154	140	5.79	2.6	3.19	1.60
(43)	HCV	1	Necrosi epatica	210	25	150	125	6.12	4.39	1.73	0.22
(44)	HBV	1	Epatite (ALT > 5xUNL) + clearence HBeAg	28	130	300	170	nd	nd	2	2
(45)	HBV	Caso 1	Epatite (ALT > 5xUNL)	240	14	260	246	5.73	2.60	3.12	0.78
(46)	HBV	1	Epatite (ALT > 5xUNL)	90	90	187	97	5.89	2.60	3.28	1.64
(47)	HBV	1	Epatite (ALT > 5xUNL) + clearence HBsAg	63	200	384	184	nd	nd	1	0.5
(48)	HBV	Caso 1	Epatite (ALT > 5xUNL)	70	19	286	267	5.64	1.97	3.67	1.67
(48)	HBV	Caso 2	Epatite (ALT > 5xUNL)	175	484	441	-43	5.94	1.30	4.64	0.80
(49)	HBV	Caso 1 (Pt 24)	Epatite (ALT > 5xUNL). risalita HBV DNA	168	76	72	-4	2.88	2.09	0.79	0.13
(49)	HBV	Caso 2 (Pt 21)	Epatite (ALT > 5xUNL), risalita HBV DNA	84	25	25	0	5.16	2.63	2.54	0.85
(49)	HBV	Caso 3 (Pt 39)	Epatite (ALT > 5xUNL), risalita HBV DNA	84	134	202	68	5.21	2.16	3.05	1.02
(50)	HBV	1	Epatite (ALT > 5xUNL) +	28	4	97	93	nd	nd	nd	nd

			clearance HBsAg								
(51)	HCV	9	Epatite (ALT > 5xUNL)	28	15	nd	nd	5.1	nd	nd	nd
Mediana				84	54		125			2.85	1.02

raccolte sia al basale che durante il follow-up sono: linfociti T CD4+ (nelle classi: 0-199, 200-350, 351-500, >500 cellule/mm³), HIV-RNA (al basale: <5, >5 log₁₀ copie/mL; ai successivi follow-up: non rilevabile, rilevabile ≤50 copie/mL, rilevabile >50 copie/mL), consumo di alcool, assunzione di terapie concomitanti (qualsiasi farmaco diverso dalla ART), presenza/assenza di comorbidità. Il dato sul consumo di alcool da parte di ciascun paziente arruolato è stato riportato dal medico che ha arruolato il paziente al momento dell'ingresso nello studio ed alle successive visite cliniche (almeno ogni 6 mesi) durante il follow-up. Più nel dettaglio, le domande previste nel colloquio con i pazienti (e le possibili risposte) sono le seguenti: 1) Attualmente bevete alcolici? (Sì/No/Sconosciuto); 2) Con quale frequenza bevete alcolici? (Giornalmente/Non giornalmente/Sconosciuto); 3) Quante unità di (Vino/Birra/Drinks) consuma al giorno? La frequenza e la quantità di bevande consumate vengono in seguito convertite in categorie di consumo, mappando i dati secondo le definizioni descritte nelle linee guida dell'Associazione Europea per lo Studio del Fegato (European Association for the Study of the Liver, EASL) (62). La presenza di comorbidità è stata definita in base alla presenza o meno di una delle seguenti condizioni: eventi cardiaci o cerebrovascolari (infarto miocardico, bypass coronarico, angioplastica coronarica, endoarterectomia carotidea, ictus, emorragia cerebrale), meningite batterica, malattia renale (insufficienza renale cronica, definita da

almeno due stime consecutive del filtrato glomerulare <60 mL/min per 1.73 m², stimate con la formula CKD-EPI; o trattamento dialitico o trapianto renale) e tutte le neoplasie maligne non-AIDS definenti. Il livello di gamma glutamil transferasi (GGT) è stato definito al di sopra dei limiti della norma se >29 U/L nelle pazienti di sesso femminile, mentre nei pazienti di sesso maschile la soglia è stata definita in base all'età: >31 U/L per 18-35 anni, >35 U/L per 36-40, >37 U/L per 41-45, >39 U/L per 46-50, >42 U/L per 51-54, >45 U/L per 55, >48 U/L per età >46 anni.

3.5. Metodi statistici

L'outcome primario dell'analisi è stato definito come la presenza di LEE di grado ≥ 2 confermata su due prelievi successivi, in pazienti che abbiano avviato la ART di prima linea.

Il basale dell'analisi è stato considerato l'inizio della ART. I dati relativi ad ogni paziente sono stati raccolti longitudinalmente in modo prospettico fino alla comparsa di LEE o fino all'ultimo follow-up disponibile. L'analisi è stata eseguita secondo il principio intention to treat (ITT), e le variazioni terapeutiche effettuate durante il follow-up non sono state considerate. Il tasso di incidenza dei LEE è stato calcolato come numero di nuovi casi in anni-persona di follow-up a rischio (person-year follow-up, PYFU). Al fine di tenere conto nell'analisi del fatto che i pazienti persi al follow-up potevano essere deceduti o comunque persi per motivi con una potenziale influenza sul risultato dell'analisi stessa, abbiamo calcolato la probabilità inversa di

censuring weight attraverso due modelli di regressione logistica. Quindi, per stimare l'Hazard Ratio (HR) causale di LEE sulla base della classe di farmaci antiretrovirali utilizzata in ciascun paziente (PI/b, NNRTI o INSTI), abbiamo applicato una regressione logistica pesata (che equivale a un modello di regressione di Cox) aggiustando per le principali variabili confondenti, considerando sia le covariate fisse, che le covariate variabili nel tempo.

Tutte le analisi sono state ripetute nel sottogruppo di pazienti con valori normali di GGT al basale.

Per valutare se la presenza di epatite virale fosse un modificatore di effetto nell'associazione tra il rischio di LEE e il tipo di regime ART, è stata effettuata un'analisi formale della presenza di interazione.

3.6. Approvazione dello Studio

Lo studio di coorte ICONA è stato approvato dai Comitati Etici Istituzionali di tutti i centri partecipanti. La lista complete dei Comitati Etici che hanno approvato lo studio è fornita in Appendice.

4. Risultati

4.1 I pazienti

Complessivamente, sono stati inclusi 6575 pazienti naive alla ART, 2384 (36.3%) che hanno avviato 2 NRTI+NNRTI, 2436 (37.1%) NRTI+PI/b e 1755 (26.7%) NRTI+INSTI. I pazienti erano per l'81% di sesso maschile, il 26% aveva <200 linfociti T CD4⁺/mm³ al basale e l'età mediana era di 39 (32-47) anni. L'HBsAg e l'HCV-RNA sono stati

rilevati, rispettivamente, nel 3.9% e nel 5.8% della popolazione dello studio. Le principali caratteristiche della popolazione dello studio, mostrate in base alla classe di farmaci iniziata sono mostrate nella Tabella 3.

Tabella 3: Caratteristiche dei 6575 pazienti partecipanti allo studio, al momento di avvio della terapia antiretrovirale (ART). Ove non altrimenti specificato, i dati sono forniti come numeri assoluti e percentuali. Abbreviazioni: 3TC: lamivudina; ABC: abacavir; ATV: atazanavir; BL: basale; BMI: body mass index; CD4: linfociti T CD4+; CD8: linfociti T CD8+; CDC: Centers for Disease Control and Prevention; DRV: darunavir; DTG: dolutegravir; EFV: efavirenz; EVG: elvitegravir; FTC: emtricitabina; INSTI: inibitori dell'integrasi; IQR: range interquartile; LPV: lopinavir; NNRTI: inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa; NRTI: inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa; PI/b: inibitori della proteasi potenziati da ritonavir o cobicistat; RAL: raltegravir; RPV: rilpivirina; TDF: tenofovir; ND non determinato.

		Popolazione dello studio N=6575	NNRTI N=2384	PI/b N=2436	INSTI N=1755	p-value
Sesso	maschile	3954 (80.8%)	1995 (86.7%)	1840 (75.5%)	1449 (82.6%)	<0.001
	femminile	941 (19.2%)	389 (16.3%)	596 (24.5%)	306 (17.4%)	
Età (anni)	<35	2481 (37.7%)	963 (40.4%)	878 (36.1%)	640 (36.5%)	<0.001
	35-45	2109 (32.1%)	783 (32.8%)	812 (33.3%)	514 (29.3%)	
	45+	1985 (30.2%)	638 (26.8%)	746 (30.6%)	601 (34.2%)	

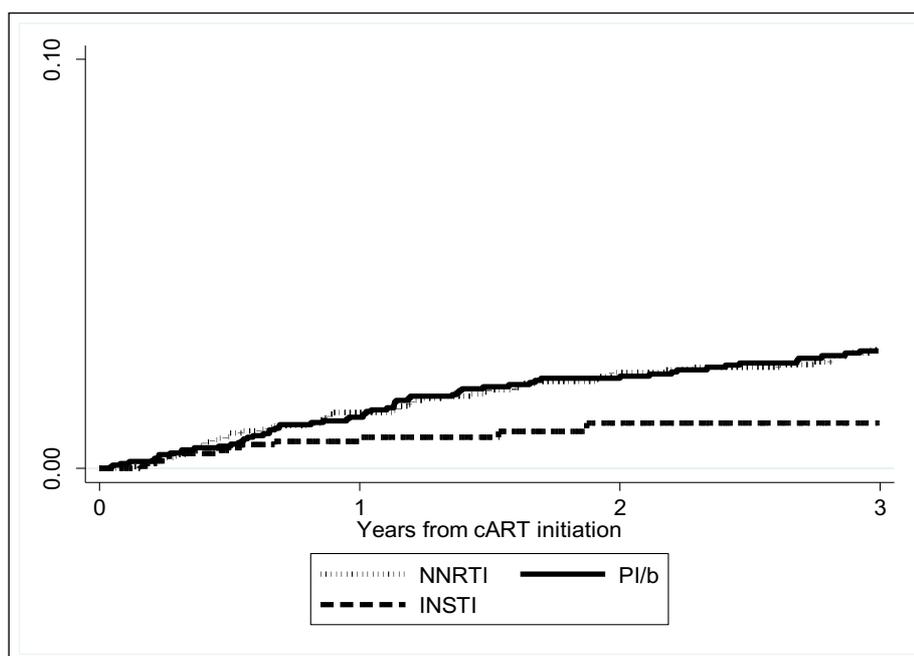
Fattore di rischio per HIV					
eterosessuale	2553 (38.8%)	853 (35.8%)	1091 (44.8%)	609 (34.7%)	<0.001
tossicodipendenza	465 (7.1%)	163 (6.8%)	215 (8.8%)	87 (5.0%)	
omosessuale	3045 (16.3%)	1198 (50.3%)	934 (38.3%)	913 (52.0%)	
Altro/non noto	512 (7.8%)	170 (7.1%)	196 (8.1%)	146 (8.3%)	
BMI					
sottopeso	252 (3.8%)	69 (2.9%)	121 (5.0%)	62 (3.5%)	<0.001
normale	3214 (48.9%)	1240 (52.0%)	1202 (49.3%)	772 (44.0%)	
sovrappeso	993 (15.1%)	407 (17.1%)	360 (14.8%)	226 (12.9%)	
obesità	225 (3.4%)	84 (3.5%)	85 (3.5%)	56 (3.2%)	
Non noto	1891 (28.8%)	584 (24.5%)	668 (27.4%)	639 (36.4%)	
stadio C (secondo CDC)	606 (9.2%)	104 (4.4%)	315 (12.9%)	187 (10.7%)	<0.001
Durata di HIV, anni, mediana (IQR)	0.3 (0.1-2.3)	0.9 (0.2-3.3)	0.2 (0.1-2.0)	0.1 (0.1-0.7)	<0.001
CMV IgG					
negativi	360 (5.5%)	127 (5.3%)	137 (5.6%)	96 (5.5%)	0.156
positivi	2733 (41.5%)	973 (40.8%)	1058 (43.4%)	702 (40.0%)	
Non noto	3482 (53.0%)	1284 (53.9%)	1241 (51.0%)	957 (54.5%)	
HBsAg					
negativi	5010 (76.2%)	1826 (76.6%)	1866 (76.6%)	1318 (75.1%)	0.722
positivi	253 (3.9%)	87 (3.7%)	97 (4.0%)	69 (3.9%)	
Non noto	1312 (19.9%)	471 (19.7%)	473 (19.4%)	368 (21.0%)	
HCVAb & HCV RNA					
HCVAb -	5131 (78.0%)	1887 (79.2%)	1877 (77.1%)	1367 (77.9%)	<0.001
HCVAb+ & HCV RNA-	103 (1.6%)	40 (1.7%)	40 (1.6%)	23 (1.3%)	
HCVAb+ & HCV RNA+	381 (5.8%)	128 (5.4%)	181 (7.4%)	72 (4.1%)	
HCVAb+ & HCV RNA ND	87 (1.3%)	32 (1.3%)	34 (1.4%)	21 (1.2%)	
Non noto	873 (13.3%)	297 (1.6%)	304 (12.5%)	272 (15.5%)	
HCV genotipo					
1	137 (2.1%)	39 (1.6%)	68 (2.8%)	30 (1.7%)	0.010
3	73 (1.1%)	26 (1.0%)	36 (1.4%)	11 (0.7%)	
4	21 (0.3%)	10 (0.4%)	6 (0.3%)	5 (0.3%)	
altro	34 (0.5%)	13(0.6%)	16 (0.7%)	5 (0.3%)	
HCV Ab-	5131 (78.0%)	1887 (79.2%)	1877 (77.0%)	1367 (77.9%)	
Non noto	1179 (18.0%)	409 (17.2%)	433 (17.8%)	337 (19.1%)	
CD4 cell/mm³					
<200	1733 (26.4%)	308 (12.9%)	908 (37.3%)	517 (29.5%)	<0.001
201-350	1611 (24.5%)	643 (27.0%)	657 (27.0%)	311 (17.7%)	
351-500	1610 (24.5%)	785 (32.9%)	479 (19.7%)	346 (19.7%)	
500+	1362 (20.7%)	538 (22.6%)	301 (12.4%)	523 (29.8%)	
missing	259 (3.9%)	110 (4.6%)	91 (3.6%)	58 (3.3%)	
CD8 cell/mm³, mediana (IQR)	889 (613-1268)	947 (681-1335)	842 (561-1203)	861 (582-1271)	<0.001
HIV RNA, log₁₀ copie/mL, mediana (IQR)	4.72 (4.14-5.22)	4.50 (4.00-4.94)	4.93 (4.31-5.42)	4.79 (4.19-5.31)	<0.001
BL ALT, mediana (IQR)	26 (18-40)	26 (18-38)	26 (18-41)	26 (19-40)	0.073

BL AST, mediana (IQR)	25 (20-33)	24 (19-32)	25 (19-35)	25 (20-34)	<0.001
BL GGT					
normali	4118 (62.6%)	1626 (68.2%)	1430 (58.7%)	1062 (60.5%)	<0.001
alte	1787 (27.2%)	505 (21.2%)	800 (32.8%)	482 (27.5%)	
Non noto	670 (10.2%)	253 (10.6%)	206 (8.5%)	211 (12.0%)	
Bilirubina totale					
normale	5593 (85.0%)	2047 (85.9%)	2085 (85.5%)	1461 (83.2%)	0.004
alta	491 (7.5%)	176 (7.3%)	189 (7.8%)	126 (7.2%)	
Non noto	491 (7.5%)	161 (6.8%)	162 (6.7%)	168 (9.6%)	
Bilirubina diretta					
normale	3707 (56.4%)	1510 (63.3%)	1450 (59.5%)	747 (42.5%)	<0.001
Alta	545 (8.3%)	185 (7.8%)	229 (9.4%)	131 (7.5%)	
Non noto	2323 (35.3%)	689 (58.9%)	757 (31.1%)	877 (50.0%)	
FIB-4 index					
<1.45	4782 (72.7%)	1845 (77.4%)	1686 (69.1%)	1251 (71.3%)	<0.001
145-3.25	1187 (18.1%)	361 (15.2%)	503 (20.7%)	323 (18.4%)	
>3.25	279 (4.2%)	65 (2.7%)	128 (5.3%)	86 (4.9%)	
Non noto	327 (5.0%)	113 (4.7%)	119 (4.9%)	95 (5.4%)	
Assunzione di alcool					
nessuna	2479 (37.7%)	937 (39.3%)	1037(42.6%)	505 (28.8%)	<0.001
occasionale	1634 (24.8%)	613 (25.7%)	526 (21.6%)	495 (28.2%)	
quotidiana	479 (7.3%)	184 (7.7%)	195 (8.0%)	100 (5.7%)	
Non noto	1983 (30.2%)	650 (27.3%)	678 (27.8%)	655 (37.3%)	
Tossicodipendenza attiva					
no	5034 (76.6%)	1935 (81.2%)	1934 (79.4%)	1165 (66.4%)	<0.001
si	172 (2.6%)	56 (2.3%)	75 (3.1%)	41 (2.3%)	
Non noto	1369 (20.8%)	393 (16.5%)	427 (17.5%)	549 (31.3%)	
NRTI backbone					
TDF+FTC	5391 (82.0%)	2204 (92.4%)	1998 (82.0%)	1189 (67.8%)	<0.001
altro	1184 (18.0%)	180 (7.6%)	438 (18.0%)	566 (32.2%)	
Terzo farmaco					
EFV	1252 (19.0%)				
DRV/r	1120 (17.0%)				
RPV	1051 (16.0%)				
ATV/r	945 (14.4%)				
DGV	788 (12.0%)				
EVG	647 (9.8%)				
LPV	350 (5.3%)				
RGV	320 (4.9%)				
other	102 (1.6%)				

4.2. Incidenza e fattori predittivi di LEE di grado ≥ 2

In 20722 anni di follow-up (PYFU) complessivi si sono verificati 183 episodi di LEE, con un tasso di incidenza di LEE pari a 8.8×1000 PYFU, 95%CI 7.6-10.2): 93 eventi di grado 2 (50.8%), 42 (23.0%) di grado 3 e 48 (26.2%) di grado 4. I LEE si sono verificati dopo un tempo mediano di 17 (6-38) mesi. All'analisi univariata i pazienti in trattamento con INSTI risultavano avere una più bassa probabilità di LEE rispetto ai pazienti trattati con NNRTI (HR 0.48, 95%CI 0.27-0.85, Figura 1). Dopo l'aggiustamento per i principali fattori confondenti, i pazienti trattati con INSTI presentavano ancora un minore rischio di LEE rispetto ai pazienti trattati con NNRTI (AHR 0.46, 95%CI 0.25-0.86, Tabella 4a). Fra i farmaci appartenenti alla classe degli INSTI (dolutegravir, elvitegravir e raltegravir), il raltegravir è risultato l'unico INSTI associato ad un minor rischio di LEE, e l'unico a mantenere un effetto protettivo significativo nell'analisi multivariata quando i singoli agenti della classe INSTI sono stati confrontati con NNRTI (AHR 0.11, 95%CI 0.02-0.84, Tabella 4b). Non sono state invece riscontrate differenze nei pazienti che utilizzavano tenofovir/emtricitabina come backone, rispetto ad altri NRTI. L'HR per LEE è risultato significativamente più elevato nei soggetti con co-infezione da HBV o HCV rispetto agli altri ed in quelli con HIV-RNA più elevato.

Figura 1: Probabilità cumulativa di LEE di grado ≥ 2 , sulla base della classe di farmaci antiretrovirali utilizzata in associazione al backbone: inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa (NNRTI), inibitori della proteasi potenziati con ritonavir o cobicistat (PI/b) o inibitori dell'integrasi (INSTI). Nel riquadro in calce alla figura sono riportate le probabilità di sviluppare LEE a 1 e a 2 anni (1YP e 2YP) oltre al relativo intervallo di confidenza al 95%, (95%CI) sulla base della classe di farmaci utilizzata.



	1YP	95% CI	2YP	95%CI
NNRTI	1.4	1.0-2.0	2.4	1.8-3.1
PI/b	1.3	0.9-1.8	2.2	1.7-2.9
INSTI	0.7	0.4-1.2	1.1	0.6-2.0

Tabella 4: Crude Hazard Ratio (HR) ed adjusted hazard ratio (AHR) per liver enzyme elevations (LEE) di grado ≥ 2 calcolati tramite due modelli di analisi multivariata: includendo le diverse classi di farmaci (a) o i singoli farmaci inibitori dell'integrasi (b) utilizzati nella terapia antiretrovirale (ART). (* time-varying covariate). Abbreviazioni: BL: basale; CD4: linfociti T CD4+; DTG: dolutegravir; EVG: elvitegravir; FTC: emtricitabina; INSTI: inibitori dell'integrasi; NNRTI: inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa; NRTI: inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa; PI/b: inibitori della proteasi potenziati da ritonavir o cobicistat; RAL: raltegravir; TDF: tenofovir.

					a) modello 1			b) modello 2					
		HR	95%CI	p	AHR*	95%CI	p	AHR*	95%CI	p			
Fattore di rischio per HIV	eterosessuale	1.00			1.00			1.00					
	tossicodipendenza	3.88	2.53	5.93	0.000	0.99	0.55	1.79	0.983	0.95	0.52	1.74	0.877
	omosessuale	1.41	1.00	1.98	0.050	1.30	0.90	1.87	0.165	1.30	0.90	1.87	0.164
	Altro/non noto	1.04	0.53	2.03	0.918	0.96	0.48	1.91	0.898	0.95	0.47	1.91	0.888
HBsAg	negativo	1.00			1.00			1.00					
	positivo	1.75	0.97	3.16	0.064	2.03	1.09	3.80	0.027	2.02	1.08	3.79	0.028
	Non noto	1.20	0.84	1.71	0.307	1.53	0.99	2.38	0.058	1.53	0.98	2.38	0.059
HCVAb & HCVRNA	HCVAb -	1.00			1.00			1.00					
	HCVAb+ & HCVRNA-	0.44	0.06	3.19	0.42	0.51	0.07	3.47	0.489	0.48	0.07	3.31	0.459
	HCVAb+ & HCVRNA+	6.26	4.50	8.72	0.000	6.29	3.94	10.05	0.000	6.36	3.96	10.21	0.000
	HCVAb+ & HCVRNA ND	2.55	0.94	6.93	0.065	3.31	1.12	9.81	0.031	3.40	1.15	10.06	0.027
	Non noto	0.79	0.05	1.38	0.411	0.52	0.26	1.06	0.071	0.53	0.26	1.06	0.072
CD4+ al BL (cell/mm ³)	<200	1.00			1.00			1.00					
	201-350	1.08	0.73	1.61	0.698	1.02	0.61	1.71	0.942	1.02	0.61	1.71	0.950
	351-500	1.01	0.67	1.52	0.972	1.17	0.65	2.09	0.600	1.18	0.66	2.12	0.569
	500+	1.18	0.75	1.85	0.475	1.47	0.75	2.89	0.259	1.45	0.74	2.86	0.276
	Non noto	1.18	0.56	2.50	0.669	1.02	0.38	2.73	0.965	1.03	0.38	2.78	0.957
HIV-RNA al BL, log ₁₀ copie/mL	<=5	1.00			1.00			1.00					
	>5	0.84	0.61	1.15	0.272	0.78	0.54	1.12	0.180	0.77	0.53	1.12	0.173
	Non noto	0.99	0.50	1.96	0.982	1.02	0.41	2.54	0.973	1.01	0.41	2.54	0.975
Assunzione di alcool al BL	nessuna	1.00			1.00			1.00					
	occasionale	1.05	0.71	1.54	0.808	1.34	0.81	2.21	0.253	1.29	0.78	2.12	0.323
	quotidiana	1.56	0.96	2.55	0.074	1.08	0.56	2.07	0.817	1.06	0.55	2.02	0.864
	Non noto	0.98	0.69	1.41	0.931	0.92	0.46	1.81	0.803	1.04	0.59	1.85	0.890

Comorbidità	no	1.00				1.00				1.00			
al BL	si	2.01	0.50	8.09	0.327	1.94	0.44	8.58	0.385	1.92	0.42	8.71	0.397
Terapie concomitanti al BL	no	1.00				1.00				1.00			
	si	0.93	0.64	1.36	0.725	0.91	0.54	1.53	0.723	0.93	0.55	1.56	0.775
CD4+ attuali (cell/mm ³)*	<200	1.00				1.00				1.00			
	201-350	1.02	0.57	1.84	0.943	0.97	0.52	1.82	0.925	0.97	0.52	1.83	0.926
	351-500	0.75	0.42	1.36	0.351	0.65	0.34	1.25	0.197	0.65	0.34	1.25	0.196
	500+	0.73	0.43	1.23	0.238	0.64	0.33	1.25	0.191	0.64	0.33	1.24	0.183
	Non noto	0.77	0.10	5.76	0.795	0.18	0.01	2.34	0.191	0.18	0.01	2.28	0.184
Current HIV RNA	Non rilevabile	1.00				1.00				1.00			
log ₁₀ copies/mL*	rilevabile <50 copie/ml	1.47	0.98	2.22	0.065	1.54	1.01	2.36	0.047	1.55	1.01	2.37	0.045
	rilevabile >50 copie/ml	1.97	1.22	3.17	0.005	1.79	1.08	2.97	0.024	1.80	1.08	2.97	0.023
	Non noto	2.85	0.67	12.15	0.156	5.08	0.81	31.76	0.082	5.31	0.85	32.99	0.073
Assunzione di alcool corrente*	nessuna	1.00				1.00				1.00			
	occasionale	0.97	0.65	1.44	0.889	0.81	0.50	1.33	0.405	0.85	0.52	1.39	0.510
	quotidiana	1.61	0.98	2.66	0.060	1.18	0.64	2.17	0.594	1.21	0.67	2.20	0.531
	Non noto	1.00	0.66	1.51	0.997	1.00	0.54	1.79	0.946	0.99	0.54	1.80	0.963
Comorbidità correnti*	no	1.00				1.00				1.00			
	si	1.21	0.52	2.82	0.660	1.15	0.48	2.73	0.760	1.15	0.48	2.76	0.749
Terapie concomitanti correnti*	no	1.00				1.00				1.00			
	yes	1.04	0.75	1.45	0.805	1.06	0.69	1.63	0.793	1.04	0.67	1.60	0.86
NRTI backbone	TDF/FTC vs altri	1.12	0.73	1.70	0.610	0.94	0.59	1.51	0.811	0.95	0.59	1.54	0.843
Classe del terzo farmaco	2NRTI+NNRTI	1.00				1.00							
	2NRTI+PI/b	1.03	0.76	1.40	0.838	0.95	0.68	1.34	0.778				
	2NRTI+INSTI	0.48	0.27	0.85	0.012	0.46	0.25	0.86	0.014				
Terzo farmaco	2NRTI+NNRTI	1.00								1.00			
	2NRTI+PI/b	0.90	0.58	1.39	0.619					0.95	0.68	1.34	0.789
	DGV	0.90	0.54	1.48	0.669					0.61	0.25	1.49	0.280
	EVG	1.05	0.69	1.59	0.824					0.66	0.28	1.55	0.338
	RAL	0.51	0.22	1.19	0.120					0.11	0.02	0.84	0.033

L'interazione tra il tipo di ART effettuata e la presenza di co-infezione da HCV e HBV è stata testata formalmente. La tabella 5 riporta il tasso di incidenza di LEE di grado ≥ 2 e ≥ 3 tra i pazienti trattati con NNRTI, PI/b e INSTI con o senza co-infezione HCV ed HBV. Il rischio di LEE sia di grado ≥ 2 che di grado ≥ 3 non è risultato significativamente differente sulla base della positività o meno di HCV-Ab e di HBsAg per le diverse classi di farmaci (p-value al test di interazione=0.117,

$p=0.190$, rispettivamente, per LEE di grado ≥ 2 ; p -value al test di interazione= 0.590 e $p=0.870$ per LEE di grado ≥ 3).

Il set di dati è stato inoltre rivisto per tener conto di eventuali infezioni virali acute da epatite A (HAV) ed epatite E (HEV) al momento dell'evento LEE. Quarantacinque pazienti inclusi nello studio hanno avuto un'infezione acuta da HAV durante il periodo di osservazione ed in sei di questi casi l'infezione acuta è stata segnalata in concomitanza dell'evento LEE (in un periodo di tempo compreso fra -49 e +45 giorni dall'insorgenza del LEE). Tutti e 6 i pazienti riportavano come fattore di rischio per l'infezione rapporti omosessuali non protetti. Non sono stati riportati casi di HEV acuti.

4.3. Incidenza e fattori predittivi di LEE di grado ≥ 3

Un evento LEE di grado ≥ 3 si è verificato in 90 PLWHIV in prima linea terapeutica ART durante 20983 PYFU, con un tasso di incidenza pari a 4.3×1000 PYF, dopo un tempo mediano di 14 (6-36) mesi. I fattori predittivi di LEE gravi (grado ≥ 3) erano simili a quelli associati a LEE di grado ≥ 2 . Il rischio di LEE gravi (grado ≥ 3) è risultato significativamente più basso nei pazienti con un'elevata conta T-linfocitaria CD4+ (HR 0.38, 95%CI 0.15-0.94 per CD4 compresi fra 350-500 vs.<200 cellule/mm³; HR 0.31, 95%CI 0.12-0.76 per CD4>500 cellule/mm³ vs.<200 cellule/mm³), mentre il rischio era più alto in pazienti con nota co-infezione da HBV (HR 2.33, 95%CI 1.08-5.04), nei pazienti con nota co-infezione da HCV (HR 7.70, 95%CI 4.26-13.91), in quelli con HIV-RNA rilevabile al momento dei LEE (HR 2.17, 95%CI 1.09-4.31) e in quelli che avevano acquisito l'infezione da HIV attraverso rapporti omosessuali non protetti rispetto

a chi riportava rapporti non protetti eterosessuali (HR 2.61, 95%CI 1.49-4.57).

Tabella 5: Tasso di incidenza, numero di eventi, persone-anno di follow-up (PYFU) per liver enzyme elevations (LEE) di grado ≥ 2 e ≥ 3 sulla base della classe di farmaci antiretrovirali utilizzata, stratificati per presenza di co-infezione HBV ed HCV. Abbreviazioni: 95%CI: intervallo di confidenza al 95%; INSTI: inibitori dell'integrasi; IR: incidence rate; NNRTI: inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa; PI/b: inibitori della proteasi potenziati da ritonavir o cobicistat, PYFU: pazienti-anno di follow-up.

	HCVAb -					HCVAb +					p (interaction test)
	LEE grado ≥ 2	PYFU	IR	95%CI		LEE grado ≥ 2	PYFU	IR	95%CI		
NNRTI	53	6900	7.72	5.90	10.11	21	638	32.91	21.46	50.48	0.117
PI/b	49	7500	6.51	4.92	8.62	33	913	36.15	25.70	50.85	
INSTI	11	2100	5.35	2.96	9.66	2	186	10.74	2.69	42.94	
	LEE grado ≥ 3	PYFU	IR	95%CI		LEE grado ≥ 3	PYFU	IR	95%CI		p (interaction test)
NNRTI	26	6900	3.74	2.55	5.50	13	662	19.63	11.40	33.81	0.590
PI/b	20	7600	2.63	1.70	4.08	18	972	18.53	11.67	29.41	
INSTI	8	2100	3.88	1.94	7.76	1	187	5.34	0.75	37.93	
	HbsAg -					HbsAg +					p (interaction test)
	LEE grado ≥ 2	PYFU	IR	95%CI		LEE grado ≥ 2	PYFU	IR	95%CI		
NNRTI	55	6500	8.40	6.45	10.94	6	327	18.35	8.24	40.84	0.190
PI/b	65	7400	8.81	6.91	11.24	4	400	10.00	3.75	26.63	
INSTI	11	1900	5.67	3.14	10.23	2	108	18.43	4.61	73.68	
	LEE grado ≥ 3	PYFU	IR	95%CI		LEE grado ≥ 3	PYFU	IR	95%CI		p (interaction test)
NNRTI	31	6600	4.69	3.30	6.67	4	338	11.85	4.45	31.57	0.870
PI/b	30	7500	4.01	2.81	5.74	2	405	4.94	1.24	19.76	
INSTI	7	1900	3.60	1.71	7.54	2	108	18.43	4.61	73.68	

Tabella 6: Crude Hazard Ratio (HR) ed adjusted hazard ratio (AHR) per liver enzyme elevations (LEE) di grado ≥ 3 calcolati tramite due modelli di analisi multivariata: includendo le diverse classi di farmaci (a) o i singoli farmaci inibitori dell'integrasi (b) utilizzati nella terapia antiretrovirale (ART). (* time-varying covariate). Abbreviazioni: BL: basale; CD4: linfociti T CD4+; DTG: dolutegravir; EVG: elvitegravir; FTC: emtricitabina; INSTI: inibitori dell'integrasi; NNRTI: inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa; NRTI: inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa; PI/b: inibitori della proteasi potenziati da ritonavir o cobicistat; RAL: raltegravir; TDF: tenofovir.

					a) model 1				b) model 2				
		HR	95%CI	p	AHR	95%CI	p	AHR	95%CI	p			
Fattore di rischio per HIV	eterosessuale	1.00			1.00			1.00					
	tossicodipendenza	5.15	2.67	9.91	0.000	1.22	0.55	2.71	0.621	1.20	0.54	2.67	0.659
	omosessuale	2.33	1.37	3.96	0.002	2.61	1.49	4.57	0.001	2.65	1.51	4.66	0.001
	Altro/non noto	1.46	0.55	3.92	0.448	1.34	0.49	3.68	0.568	1.38	0.49	3.86	0.543
HBsAg	negativo	1.00			1.00			1.00					
	positivo	2.22	1.06	4.62	0.033	2.33	1.08	5.04	0.031	2.33	1.07	5.05	0.033
	Non noto	0.80	0.45	1.42	0.447	1.11	0.60	2.04	0.749	1.07	0.58	1.98	0.834
HCVAb & HCVRNA	HCVAb -	1.00			1.00			1.00					
	HCVAb+ & HCVRNA-	0.94	0.13	6.78	0.949	1.17	0.17	8.24	0.875	1.14	0.16	8.04	0.898
	HCVAb+ & HCVRNA+	6.85	4.34	10.82	0.000	7.70	4.26	13.91	0.000	7.91	4.33	14.45	0.000
	HCVAb+ & HCVRNA ND	3.98	1.24	12.73	0.020	4.25	1.31	13.80	0.016	4.29	1.33	13.86	0.015
	Non noto	0.47	0.17	1.29	0.143	0.46	0.16	1.32	0.148	0.47	0.16	1.35	0.161
CD4+ al BL (cell/mm ³)	<200	1.00			1.00			1.00					
	201-350	0.90	0.50	1.64	0.738	1.20	0.54	2.68	0.657	1.17	0.53	2.60	0.695
	351-500	1.01	0.56	1.84	0.966	1.61	0.64	4.08	0.312	1.59	0.63	3.99	0.327
	500+	1.55	0.85	2.83	0.152	3.14	1.17	8.45	0.023	2.96	1.10	7.92	0.031
	Non noto	1.56	0.59	4.11	0.372	2.15	0.78	5.90	0.139	2.08	0.74	5.87	0.167
HIV RNA al BL, log ₁₀ copie/mL	<=5	1.00			1.00			1.00					
	>5	1.07	0.69	1.67	0.755	1.13	0.69	1.84	0.639	1.14	0.69	1.91	0.607
	Non noto	1.05	0.66	3.58	0.319	0.92	0.42	2.05	0.847	0.96	0.42	2.16	0.913
Assunzione di alcool	nessuna	1.00			1.00			1.00					
	occasionale	1.22	0.72	2.05	0.465	2.03	1.16	3.57	0.013	1.96	1.11	3.45	0.020

	quotidiana	1.35	0.65	2.82	0.423	1.09	0.46	2.56	0.850	1.06	0.45	2.51	0.895
	Non noto	0.90	0.53	1.53	0.703	1.13	0.43	2.97	0.798	1.11	0.42	2.93	0.837
Co-morbidità	no	1.00				1.00				1.00			
al BL	si	4.11	1.01	16.71	0.048	3.68	0.78	17.35	0.100	3.89	0.80	18.98	0.093
Terapie concomitanti	no	1.00				1.00				1.00			
al BL	si	1.06	0.63	1.78	0.826	0.86	0.43	1.74	0.683	0.87	0.43	1.76	0.705
CD4+ correnti	<200	1.00				1.00				1.00			
(cell/mm ³)*	201-350	0.81	0.38	1.73	0.588	0.60	0.27	1.34	0.214	0.59	0.26	1.33	0.205
	351-500	0.56	0.26	1.21	0.139	0.38	0.15	0.94	0.036	0.36	0.14	0.91	0.031
	500+	0.61	0.32	1.17	0.139	0.31	0.12	0.76	0.011	0.29	0.11	0.73	0.008
	missing	1.11	0.14	8.56	0.922	0.08	0.01	1.12	0.060	0.08	0.01	1.09	0.058
HIV RNA corrente	not detected	1.00				1.00				1.00			
copie/mL*	detected ≤50	1.29	0.75	2.22	0.365	1.43	0.80	2.57	0.232	1.46	0.80	2.63	0.215
	>50	2.10	1.12	3.93	0.020	2.17	1.09	4.31	0.027	2.18	1.10	4.33	0.026
	missing	4.96	1.12	21.96	0.035	11.16	1.84	67.71	0.009	11.04	1.86	65.39	0.008
Assunzione di alcoolici	assente	1.00				1.00				1.00			
corrente*	occasionale	0.98	0.58	1.65	0.936	0.58	0.34	1.00	0.049	0.62	0.36	1.07	0.085
	quotidiana	1.24	0.60	2.56	0.556	0.79	0.35	1.78	0.573	0.82	0.37	1.86	0.641
	Non noto	0.89	0.50	1.57	0.684	0.87	0.31	2.44	0.785	0.91	0.32	2.59	0.854
Comorbidità correnti*	no	1.00				1.00				1.00			
	si	1.43	0.52	3.96	0.490	1.38	0.47	4.00	0.558	1.41	0.47	4.20	0.539
Terapie concomitanti	no	1.00				1.00				1.00			
correnti*	si	1.14	0.72	1.79	0.581	1.14	0.61	2.13	0.671	1.13	0.61	2.10	0.689
NRTI backbone	Truvada vs altri	1.61	0.81	3.20	0.177	1.44	0.66	3.17	0.363	1.25	0.55	2.86	0.593
Classe del terzo farmaco	2NRTI+PI/b	0.91	0.59	1.42	0.683	0.81	0.49	1.33	0.398				
	2NRTI+INSTI	0.65	0.32	1.31	0.228	0.64	0.31	1.33	0.235				
	2NRTI+NNRTI	1.00								1.00			
Terzo farmaco	2NRTI+NNRTI	1.00								1.00			
	2NRTI+PI/b	0.91	0.59	1.41	0.681					0.79	0.48	1.30	0.352
	DGV	0.33	0.08	1.38	0.130					0.39	0.09	1.69	0.208
	EVG	1.29	0.57	2.93	0.539					1.24	0.54	2.89	0.611
	RAL	0.26	0.04	1.86	0.178					0.19	0.02	1.50	0.115

Il tipo di ART di prima linea o l'uso di tenofovir/emtricitabina come backbone non hanno influenzato l'incidenza di LEE di grado ≥ 3 (HR per INSTI vs. NNRTI 0.64, 95%CI 0.31-1.33; e HR per PI/b vs. NNRTI 0.81, 95%CI 0.49-1.33; HR per TDF/FTC vs. altri NRTI 1.44, 95%CI 0.55-2.86). L'analisi completa dei fattori di rischio per LEE di grado ≥ 3 è mostrata in Tabella 6.

4.5. Incidenza di LEE e fattori predittivi nei pazienti con GGT nei limiti della norma al basale.

Per escludere confondenti legati alla presenza di alterata funzionalità epatica al basale, l'analisi è stata ripetuta in 4118 pazienti con GGT nella norma al momento di avvio della ART. In questo sottogruppo di pazienti (N=4118) si sono verificati 114 episodi di LEE in 13182 PYFU, di cui 61 eventi di grado 2 (53.5%), 22 (19.3%) di grado 3 e 31 (27.2%) di grado 4. Il tasso di incidenza di LEE di grado ≥ 2 è stato di 8.6 x 1000 PYFU (95%CI 7.2-10.4) ed il tasso di incidenza di LEE di grado ≥ 3 è stato di 4.3 x 1000 PYFU (95%CI 3.5-5.3). All'analisi univariata e multivariata i pazienti in trattamento con INSTI hanno mostrato un rischio ridotto di LEE di grado ≥ 2 , seppur non statisticamente significativo (HR 0.42, 95%CI 0.15-1.22; adjusted HR 0.41, 95%CI 0.14-1.22), rispetto ai pazienti trattati con NNRTI (Tabella 7).

Tabella 7. Adjusted hazard ratio (AHR) per liver enzyme elevations (LEE) di grado ≥ 2 e di grado ≥ 3 nel gruppo di pazienti (N=4118) con livelli di gamma glutamil transferasi nei limiti della norma all'avvio della terapia antiretrovirale. *Il modello multivariato è stato aggiustato per fattore di rischio per HIV, co-infezione HBV e HCV, utilizzo di tenofovir/emtricitabina come backbone, CD4+ (al basale e correnti), HIV-RNA (al basale e corrente), assunzione di alcool (al basale e

corrente), assunzione di terapie concomitanti (al basale e correnti), presenza di comorbidità (al basale e correnti). Abbreviazioni: INSTI: inibitori dell'integrasi; NNRTI: inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa; NRTI: inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa; PI/b: inibitori della proteasi potenziati da ritonavir o cobicistat.

		HR	95%CI	p	AHR*	95%CI	p
LEE grado ≥ 2	2NRTI+NNRTI	1.00			1.00		
	2NRTI+PI/b	1.00	0.68 1.46	0.994	0.94	0.61 1.43	0.767
	2NRTI+INSTI	0.47	0.22 1.00	0.051	0.47	0.22 1.02	0.055
LEE grado ≥ 3	2NRTI+NNRTI	1.00			1.00		
	2NRTI+PI/b	0.66	0.37 1.17	0.158	0.64	0.33 1.24	0.189
	2NRTI+INSTI	0.42	0.15 1.22	0.111	0.41	0.14 1.22	0.109

4.6. Incidenza di IRIS EPATICA

Dopo revisione della letteratura disponibile sull'argomento (42–51), l'IRIS epatica è stata definita come l'insorgenza di LEE di grado ≥ 2 in concomitanza di un decadimento della carica virale HIV-RNA di almeno $2.85 \log_{10}$ totali o di almeno $1 \log_{10}$ /mese di ART, unitamente a una risalita della conta linfocitaria T CD4+ pari almeno a 125 cellule/mm³, o maggiore, nei PLWHIV con confermata diagnosi di co-

infezione HBV (HBsAg positività) o HCV (HCV-RNA positività) e che avevano al momento dell'avvio della ART una conta linfocitaria T CD4+ < 350 cell/ mm³. Solo gli eventi occorsi nei primi 6 mesi di terapia sono stati considerati compatibili con IRIS epatica (per dettagli si rimanda al capitolo 3.3. dello studio). Nella coorte ICONA, solo 5 pazienti sul totale di 6575 partecipanti allo studio hanno sviluppato un episodio di LEE che soddisfacesse la definizione di IRIS epatica, con un tasso di incidenza complessivo di 0.15 x 1000 PYFU (95%CI 0.06-0.37). Tre di loro avevano una co-infezione da virus HCV e due HBV. Il numero medio e mediano di linfociti T CD4+ al momento di avvio della ART nei cinque pazienti era, rispettivamente, di 214 (deviazione standard ± 97.7) e di 258 (IQR 233-266) cellule/mm³. Tre di loro avevano avviato una terapia di prima linea con NNRTI, uno con PI potenziato, ed uno con INSTI. Tutti e cinque i pazienti avevano riferito rapporti sessuali non protetti come fattore di rischio per l'infezione da HIV (rapporti omosessuali in tre partecipanti ed eterosessuali in un partecipante) e nessuno di loro ha riferito l'uso di sostanze d'abuso, mentre due riferivano assunzione quotidiana di alcoolici ed uno assunzione occasionale (nessuna assunzione di alcoolici riferita nei restanti due partecipanti). La latenza tra l'inizio dell'ART e i LEE (possibili episodi di IRIS epatica) era compresa tra i 3.4 ed i 5.3 mesi.

5. DISCUSSIONE

5.1. Interpretazione dei risultati

Nel presente studio, abbiamo studiato l'incidenza di LEE in una vasta coorte di pazienti in terapia ART di prima linea. Il risultato principale

dello studio è stato il riscontro di un minor rischio di LEE nei pazienti in trattamento con INSTI, nei quali il rischio risultava dimezzato rispetto a quello dei partecipanti in trattamento PI/b o NNRTI. Il dato è particolarmente importante alla luce della scarsità di dati sulla tossicità epatica delle terapie antiretrovirali di nuova generazione, per le quali, vista la recente introduzione in commercio, i dati disponibili sono per lo più derivati da trials clinici, mentre pochi dati derivano da studi di pratica clinica (21,25,63,64). In particolare, ad oggi sono ancora scarsi i dati di pratica clinica sull'utilizzo degli INSTI, i quali, ancorchè generalmente caratterizzati da un eccellente profilo di tollerabilità (20), hanno un follow-up successivo all'immissione in commercio relativamente breve (65–71). I trials clinici condotti sull'utilizzo degli INSTI in pazienti in prima linea terapeutica hanno mostrato un basso tasso di interruzione della ART a causa di LEE, ovvero <1% per raltegravir, elvitegravir e dolutegravir (24–32) e anche negli studi osservazionali successivi un tasso molto basso degli eventi avversi riportati era effettivamente costituito da eventi epatici (22,33–35). In linea con questi risultati, nel nostro studio gli INSTI hanno mostrato il profilo epatico più favorevole fra le classi di farmaci in studio, sulla base dell'incidenza di LEE. In particolare, fra i diversi INSTI valutati, il raltegravir è risultato l'unico associato ad una riduzione significativa del rischio di LEE, pari all' 89%, suggerendo un profilo di tollerabilità epatica molto sicuro. Questo risultato potrebbe essere spiegato in parte sulla base del metabolismo del raltegravir, che è l'unico INSTI a bypassare completamente il sistema di citocromi, risultando così quello con il minor potenziale di tossicità epatica e di interazioni

farmacologiche (63). D'altra parte, la possibilità di tossicità epatica legata sia all'esposizione a PI/b che a NNRTI è nota, ed è stata già dimostrata in passato per vecchi farmaci appartenenti ad entrambe le classi (16,18,54,72). Tuttavia, nel nostro lavoro, le differenze tra le classi di antiretrovirali sono risultate significative solo nell'analisi di tutti gli eventi LEE di grado ≥ 2 , e non nell'analisi ristretta agli episodi più gravi, di grado ≥ 3 , e l'impatto clinico dei LEE di basso grado non è pienamente compreso. In passato è stata riportata in letteratura un'aumentata mortalità nei pazienti affetti da HIV con valori di ALT superiori ai limiti superiori della norma ed in quelli con elevazione $AST > 200$ UI/mL, ma le effettive implicazioni dei LEE sono ancora oggetto di studio (9,10,37). Tuttavia, il verificarsi di LEE è un evento indesiderabile, che comporta, come minimo, l'intensificazione dei controlli ematici programmati, l'applicazione di un programma diagnostico per trovare le possibili cause e, talvolta, anche l'interruzione della terapia nel caso in cui non si trovino cause alternative per spiegare l'evento (37,73–75). Nel nostro studio, tuttavia, è stato riscontrato un intervallo di tempo mediano fra l'inizio della ART e l'insorgenza di LEE molto prolungato, pari a 17 mesi, che rende difficile imputare gli eventi LEE esclusivamente ad una tossicità della ART in corso al momento dell'evento, e che suggerisce piuttosto un meccanismo di effetti additivi di molteplici fattori, che si sommano nel tempo, e che può essere più o meno favorito dalla ART concomitante. È comunque interessante notare che il tasso di incidenza di LEE riscontrato nel nostro lavoro è stato inferiore rispetto a quello riportato in passato, nonostante intervalli di normalità delle transaminasi definiti su valori

più restrittivi rispetto a quelli utilizzati nella maggioranza degli studi precedenti (18,36,76,77), suggerendo un profilo epatico più favorevole delle terapie più recenti, oltre ad una riduzione delle comorbidità epatiche come la co-infezione da virus epatotropi (78). Infatti, oltre alla terapia ART avviata in prima linea, il più significativo fattore predittivo di LEE era nel nostro studio la presenza di co-infezione da HBV e HCV, in accordo con studi precedenti (18,79). Inoltre, un'infezione da HIV non controllata (bassa conta dei linfociti T CD4+ e HIV-RNA non soppresso) è risultata associata al rischio di LEE, come atteso sulla base dei dati della letteratura (15,18) e dei noti effetti tossici dell'infezione da HIV sulle cellule epatocitarie (80,81). Infine, i pazienti che avevano riportato come fattore di rischio per l'acquisizione di HIV i rapporti omosessuali non protetti sono risultati a più alto rischio di LEE gravi (grado ≥ 3). Questo risultato è stato inatteso (53,77,82) e potrebbe essere almeno in parte spiegabile da stili di vita e abitudini dei partecipanti al nostro studio, compreso l'utilizzo di chemsex a scopo ricreazionale, diffuso in Europa e, in particolare, nelle persone con comportamenti sessuali a rischio (83).

L'obiettivo secondario del nostro studio era valutare la frequenza di LEE potenzialmente causati da un'immunoricostruzione epatica. L'obiettivo di studiare l'IRIS epatica in una vasta coorte osservazionale multicentrica è particolarmente ambizioso, in quanto una diagnosi sicura di IRIS è sempre impegnativa, ed è ancora più difficile nei pazienti che sviluppano LEE, vista la possibilità di molteplici cause sottostanti l'evento LEE, tra cui la tossicità di farmaci e sostanze d'abuso, le cause metaboliche e le riattivazioni e nuove infezioni virali,

oltre all'IRIS epatica. È stato ipotizzato che il sistema immunitario dei PLWHIV che avviano per la prima volta la terapia ART, grazie al recupero immunitario che ne consegue, riescano a riconoscere gli antigeni di HBV o HCV espressi dagli epatociti, già precedentemente presenti ma non riconosciuti in corso di una profonda immunodepressione secondaria all'infezione non controllata da HIV (42–51). Il riconoscimento di tali antigeni dopo avvio della ART potrebbe innescare la strutturazione di risposte immunitarie capaci di causare necrosi epatica immunomediata (IRIS epatica), e di conseguenza LEE, con un meccanismo potenzialmente legato all'attività dei linfociti T CD8+ (42,52). La reazione immunomediata così scatenata (IRIS epatica), oltre a causare citolisi epatica, potrebbe contribuire alla sierconversione o anche alla clearance nei confronti dell'epatite, nel periodo temporale successivo ai LEE (42,44,47,50). In questo studio abbiamo proposto una definizione di IRIS epatica basata sui dati della letteratura (42–51), secondo la quale i LEE sarebbero potenzialmente attribuibili ad IRIS epatica solo in caso di riduzione dei livelli di HIV-RNA $\geq 2.85 \log_{10}$ copie/mL (o comunque di almeno 1 \log_{10} /mese), recupero complessivo di linfociti T CD4+ ≥ 125 cellule/mm³, concomitante co-infezione da HCV o HBV, in pazienti con valori basali di CD4+ < 350 cellule/mm³ ed in ART da meno di 6 mesi. Utilizzando questa definizione, abbiamo identificato solo 5 eventi compatibili con IRIS epatica, in pazienti con caratteristiche basali eterogenee e trattati con diversi regimi e diverse classi di farmaci. Sebbene la diagnosi di IRIS epatica non possa raggiungere un grado di certezza del 100%, come discusso in precedenza, i nostri dati

suggeriscono comunque che essa costituisca un evento poco frequente e che i LEE dovrebbero essere preferibilmente attribuibili ad altre possibili cause nella pratica clinica, fino a prova contraria.

5.1. Limiti dello Studio

La generalizzabilità dei risultati del nostro studio è limitata da diversi potenziali fattori. In primo luogo, a causa della natura osservazionale dello studio, i pazienti non sono stati assegnati in modo casuale alle terapie farmacologiche, e si sarebbero potute verificare distorsioni confondenti, basate sulle decisioni dei medici di prescrivere diverse terapie in pazienti con diverse caratteristiche basali, potenzialmente confondenti nella valutazione dell'outcome. Inoltre, uno dei principali fondamenti dell'analisi è l'aderenza al trattamento ART, in quanto questa è chiaramente un fattore che può influenzare sia il tipo di ART che viene prescritta, sia l'eventuale insorgenza di tossicità alla stessa e questa variabile non viene misurata nello studio ICONA. Inoltre, nell'analisi non sono stati presi in considerazione altri potenziali fattori confondenti, come le abitudini ricreative e l'uso di sostanze illecite non dichiarato da parte dei partecipanti. A questo proposito, vale la pena di notare che anche le interazioni tra ART e altre sostanze potrebbero essere fattori importanti per lo sviluppo di LEE, e potrebbero aver contribuito al risultato di miglior tollerabilità epatica degli INSTI, che sono caratterizzati da minori interazioni farmacologiche rispetto ad altre classi di farmaci (85). In terzo luogo, abbiamo scelto l'approccio pragmatico di confrontare i regimi secondo il principio dell'intention to

treat (ITT), confrontando quindi nella nostra analisi il rischio di LEE sulla base della classe di farmaci che è stata avviata in prima linea terapeutica, piuttosto che la classe utilizzata al momento dell'evento. Infine, la nostra capacità di rilevare differenze nel rischio di epatotossicità di LEE gravi (di grado ≥ 3) in corso di differenti strategie terapeutiche potrebbe essere stata limitata dal numero relativamente piccolo di questi eventi. Inoltre, sebbene nel nostro studio siano stati riportati solo sei casi di LEE in pazienti con diagnosi concomitante di infezione acuta da HAV, non possiamo escludere che alcuni casi aggiuntivi di LEE possano essere stati dovuti ad un'infezione da HAV o HEV non diagnosticata o non riportata in ICONA (84).

Per quanto riguarda l'obiettivo secondario di valutazione dei casi di IRIS epatica, inoltre, la mancanza di una definizione condivisa per definire il fenomeno e la difficoltà nell'interpretare dati raccolti in modo multicentrico rendono la possibilità di trarre conclusioni fortemente limitata. Infatti, l'IRIS epatica costituisce un'entità poco nota e poco studiata, e la diagnosi della stessa mette in difficoltà il clinico anche quando questo si trovi in presenza del singolo paziente e con la possibilità di accedere ai dati clinici completi dello stesso.

Nonostante tutte queste limitazioni, il nostro studio ha la forza di analizzare un'ampia coorte di pazienti trattati in prima linea con i moderni regimi ART.

5.3. Conclusioni

Il nostro studio mostra un basso tasso di incidenza di LEE con i moderni regimi ART di prima linea e un rischio quasi dimezzato di LEE nei PLWHIV trattati in prima linea con un INSTI, rispetto ad altri regimi, con l'uso di raltegravir associato al rischio più basso. Le co-infezioni da parte di HCV e HBV rimangono i principali fattori di rischio per lo sviluppo di LEE. L'immunoricostruzione epatica sembrerebbe un'evenienza molto rara ed un'improbabile causa di LEE, che potrebbe essere sospettata solo in caso di sicura esclusione di cause più frequenti e più solidamente associate a citolisi epatica.

6. ACKNOWLEDGEMENTS

I risultati preliminari del presente studio sono stati precedentemente presentati nella sessione poster della 10a Conferenza Italiana su AIDS e Ricerca Antivirale (ICAR) 2018.

I risultati completi dello studio sono stati pubblicati da Taramasso et al., a Novembre 2019, sul Journal of Antimicrobial Chemotherapy (86).

Icona Foundation Study Group

BOARD OF DIRECTORS: A d'Arminio Monforte (President), A Antinori (Vice-President), M Andreoni, A Castagna, F Castelli, R Cauda, G Di Perri, M Galli, R Iardino, G Ippolito, A Lazzarin, GC Marchetti, G Rezza, F von Schloesser, P Viale.

SCIENTIFIC SECRETARY: A d'Arminio Monforte, A Antinori, A Castagna, F Ceccherini-Silberstein, A Cozzi-Lepri, E Girardi, S Lo Caputo, C Mussini, M Puoti, CF Perno.

STEERING COMMITTEE: A Antinori, F Bai, C Balotta, A Bandera, S Bonora, M Borderi, A Calcagno, A Capetti, MR Capobianchi, A Castagna, F Ceccherini-Silberstein, S Cicalini, A Cingolani, P Cinque, A Cozzi-Lepri, A d'Arminio Monforte, A De Luca, A Di Biagio, E Girardi, N Gianotti, A Gori, G Guaraldi, G Lapadula, M Lichtner, S Lo Caputo, G Madeddu, F Maggiolo, G Marchetti, L Monno, C Mussini, S Nozza, CF Perno, C Pinnetti, M Puoti, E Quiros Roldan, R Rossotti, S Rusconi, MM Santoro, A Saracino, L Sarmati.

STATISTICAL AND MONITORING TEAM: A Cozzi-Lepri, I Fanti, L Galli, P Lorenzini, A Rodano', M Macchia, A Tavelli.

BIOLOGICAL BANK INMI: F Carletti, S Carrara, A Di Caro, S Graziano, F Petroni, G Prota, S Truffa.

PARTICIPATING PHYSICIANS AND CENTERS: Italy A Giacometti, A Costantini, V Barocci (Ancona); G Angarano, L Monno, E Milano (Bari); F Maggiolo, C Suardi (Bergamo); P Viale, V Donati, G Verucchi (Bologna); F Castelnuovo, C Minardi, E Quiros Roldan (Brescia); B Menzaghi, C Abeli (Busto Arsizio); B Cacopardo, B Celesia (Catania); J Vecchiet, K Falasca (Chieti); A Pan, S Lorenzotti (Cremona); L Sighinolfi, D Segala (Ferrara); P Blanc, F Vichi (Firenze); G Cassola, C Viscoli, A Alessandrini, N Bobbio, G Mazzaello (Genova); M Lichtner, S Vita, (Latina); P Bonfanti, C Molteni (Lecco); A Chiodera, P Milini (Macerata); G Nunnari, G Pellicanò (Messina); A d'Arminio Monforte, M Galli, A Lazzarin, G Rizzardini, M Puoti, A Castagna, ES Cannizzo, MC Moioli, R Piolini, D Bernacchia, S Salpietro, C Tincati, (Milano); C Mussini, C

Puzzolante (Modena); C Migliorino, G Lapadula (Monza); V Sangiovanni, G Borgia, V Esposito, F Di Martino, I Gentile, V Rizzo (Napoli); AM Cattelan, S Marinello (Padova); A Cascio, M Trizzino (Palermo); F Baldelli, E Schiaroli (Perugia); G Parruti, F Sozio (Pescara); G Magnani, MA Ursitti (Reggio Emilia); M Andreoni, A Antinori, R Cauda, A Cristaudo, V Vullo, R Acinapura, D Moschese, M Capozzi, A Mondì, A Cingolani, M Rivano Capparuccia, G Iaiani, A Latini, R Gagliardini, MM Plazzi, S Savinelli, A Vergori (Roma); M Cecchetto, F Viviani (Rovigo); G Madeddu, A De Vito(Sassari); B Rossetti, F Montagnani (Siena); A Franco, R Fontana Del Vecchio (Siracusa); D Francisci, C Di Giuli (Terni); P Caramello, G Di Perri, S Bonora, GC Orofino, M Sciandra (Torino); M Bassetti, A Londero (Udine); G Pellizzer, V Manfrin (Vicenza); G Starnini, A Ialungo (Viterbo).

7. Appendice

Elenco dei Comitati Etici che hanno approvato lo studio di Coorte ICONA

Comitato Etico Istituzionale	Data di approvazione	Protocollo di Approvazione
Comitato Etico Locale per la Sperimentazione Clinica dell'Azienda Ospedaliera Luigi Sacco - Via G.B. Grassi,74 - 20157 Milano	20 December 2007	10/08/69/07 AP
Comitato di Bioteica della ASL Sassari - Via Monte Grappa, 82 - 07100 Sassari	10 December 2007	348/L
Comitato di Bioteica dell'Azienda Ospedali Riuniti di Bergamo - Largo Barozzi,1 - 24128 Bergamo	15 October 2007	1932
Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliero Universitaria di Cagliari - Via San Giorgio,12 - 09124 Cagliari	15 November 2007	261/07/CE
Comitato Etico locale dell'Azienda USL 10 di Firenze - Ospedale Pietro Palagi - Viale Margherita,41 50125 Firenze	07 September 2007	0132246/67GP
Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera Universitaria "San Martino" di Genova - Largo Rossana Benzi,10 - 16132 Genova	09 November 2007	115/2007
Comitato Etico Palermo 1 - AOUP Policlinico Giaccone - Via del Vespro, 129 - 90127 Palermo	18 January 2016	V2016
Comitato Etico dell' Azienda Ospedaliera-Polo Universitario San Paolo - Via A. di Rudini,8 - 20142 Milano	28 November 2007	44 CE/MA/CM
Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera San Gerardo di Monza - Via Pergolesi,33 - 20052 Monza	25 October 2007	NA
Comitato Etico Locale per la Sperimentazione Clinica dei Medicinali dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Senese di Siena - Le Scotte - 53100 Siena	17 March 2014	NA
Comitato Etico della Fondazione Centro San Raffaele del Monte Tabor - Istituto Scientifico Ospedale San Raffaele - via Olgettina, 60 - 20132 Milano	12 July 2007	NA
Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera Osepdale Niguarda Ca' Granda - Piazza Ospedale Maggiore, 3 - 20162 Milano	14 September 2007	NA
Comitato etico di Area Vasta Romagna ed IRST - Viale Ghirotti, 286 - 47023 Cesena	19 September 2007	63687
Comitato Etico per la Sperimentazione Clinica della Provincia di Vicenza - Via Ridolfi, 37 - 36100 Vicenza	12 September 2007	98/07
Comitato Etico dell'Ente Ospedaliero Osepdali Galliera di Genova - Via delle Mura Cappuccine, 14 - 16128 Genova	18 July 2007	RP/246/CE

Comitato Etico per la Sperimentazione Clinica dei Medicinali della Provincia di Venezia - Via Don Federico Tosatto, 147 - 30174 Venezia	08 November 2007	29/CE
Comitato Etico dell'Azienda USL di Latina - Via Canova,2 - 04100 Latina	04 October 2007	111/350
Comitato Etico Indipendente dell'IRCCS CRO di Aviano - Via F. Gallini, 2 - 33081 Aviano (PN)	14 November 2007	857/D
Comitato Etico Unico per la Provincia di Parma - Via Gramsci, 14 - 43100 Parma	15 September 2007	26547
Comitato Etico Provinciale per la Sperimentazione Clinica - Viale Tre Martiri 45100 Rovigo	17 June 2009	217/CEP
Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliero Universitaria Santa Maria della Misericordia di Udine - Via Colugna, 50 - 33100 Udine	28 August 2012	51460
Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera Spedali Civili di Brescia - Piazza Spedali Civili, 1 - 25123 Brescia	04 December 2007	NA
Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera "Istituti Ospitalieri" di Cremona - Viale Concordia,1 - 26100 Cremona	28 February 2008	5522/08- RN/RV
Comitato di Bioetica della Fondazione IRCCS Policlinico "San Matteo" - Viale Golgi, 19 - 27100 Pavia	25 June 2007	NA
Comitato Etico Interaziendale delle AA.SS.LL di Torino - Strada dell'Arrivore 25/A - 10154 Torino	11 December 2007	1926/32/0 7
Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera "Ospedale di Lecco" - Via dell'Eremo 9/11 - 23900 Lecco	06 February 2008	NA
Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera Ospedale di Circolo di Busto Arsizio - Piazzale Solaro,3 - 21052 Busto Arsizio (VA)	30 November 2007	42847
Comitato Etico Indipendente dell'Azienda Ospedaliera-Universitaria di Bologna, Policlinico S.Orsola-Malpighi - Via Massarenti, 9 - 40138 Bologna	13 November 2007	125/2007/ 0/OSS
Comitato Etico Provinciale di Reggio Emilia - Viale Risorgimento 57 - 42100 Reggio nell' Emilia	03 September 2007	24781
Comitato Etico per Sperimentazione Clinica della Provincia di Padova - Via Giustiniani, 1 - 35128 Padova	09 June 2016	3811/AO/ 16
Comitato Etico Provinciale di Modena - Via del Pozzo 71 - 41100 Modena	06 November 2007	3039/CE
Comitato Etico Provinciale di Ferrara - Corso Giovecca, 203 - 44100 Ferrara	24 July 2007	NA
Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Ospedali Riuniti Umberto I- G.M. Lancisi - G. Salesi di Ancona - Via Conca 71 - 60126 Ancona	29 November 2007	2070211

Comitato Etico Interzonale della ASUR zona Territoriale 8 di Civitanova Marche e Zona Territoriale 9 di Macerata - Via Santa Lucia 2 - 62100 Macerata	07 February 2008	60/INT/CEI/11263
Comitato Etico per la Sperimentazione Clinica dei Farmaci della AUSL di Pescara - Via Fonte Romana, 14 - 65100 Pescara	18 January 2010	006
Comitato Etico dell'Università Cattolica del Sacro Cuore - Policlinico Universitario Agostino Gemelli di Roma - Largo A. Gemelli, 8 - 00168 Roma	13 September 2007	589/A1376/CE/2007
Comitato Etico dell'IRCCS Istituto Nazionale per le Malattie Infettive "Lazzaro Spallanzani" di Roma - Via Portuense, 292 - 00149 Roma	01 August 2007	38/2007
Comitato Etico per la Sperimentazione dei Medicinali dell'azienda Ospedaliera-Universitaria Careggi di Firenze - Viale Pieraccini, 28 - 50139 Firenze	12 July 2007	NA
Comitato Etico delle Aziende Sanitarie dell'Umbria di Perugia - Via della Rivoluzione, 16 - 06070 Perugia	21 July 2008	1296/08
Comitato Etico per le Attività Biomediche dell'Università degli Studi "Federico II" di Napoli - Via Pansini, 5 - 80135 Napoli	24 February 2016	35-2016
Comitato Etico dell'azienda Policlinico Umberto I di Roma - Viale del Policlinico, 155 - 00161 Roma	27 September 2007	1272
3 Roma Comitato Etico Indipendente dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico Tor Vergata di Roma - Viale Oxford, 81 - 00133 Roma	27 November 2007	NA
Comitato Etico Centrale IRCCS Lazio-Sezione IRCCS IFO-Fondazione GB Bietti - Via Elio Chianesi, 53 - 00144 Roma	24 June 2014	CE/38/14
Comitato Etico Lazio 1 - Circonvallazione Gianicolense, 87 - 00152 Roma	13 January 2016	263/CELAZIO1
Comitato Etico dell'Università "Sapienza" - Viale del Policlinico 155 - 00161 Roma	23 April 2015	3617
Comitato Etico delle Aziende Sanitarie della Regione dell'Umbria - Via della Rivoluzione, 16 - 06070 Ellera di Corciano (PG)	16 March 2016	7925/16
Comitato Etico Indipendente Locale dell'Azienda Ospedaliera Ospedale Policlinico Consorziale di Bari - Piazza Giulio Cesare, 11 - 70124 Bari	28 November 2007	NA
Comitato Etico dell'Azienda Ospedaliera Domenico Cotugno di Napoli - Via G. Quagliariello, 54 - 80131 Napoli	12 September 2007	32/2007
Comitato di Etica per la Ricerca Biomedica dell'Università degli Studi "G. D'annunzio" e della ASL di Chieti - Via dei Vestini, 31 - 66013 Chieti	30 October 2007	7713/R
Comitato Etico Catania 2 - Piazza S. Maria di Gesù, 7 - 95123 Catania	24 June 2014	NA
Comitato Etico di Messina - Via Consolare Valeria, 1 - 98125 Messina	16 May 2016	20/16

8. BIBLIOGRAFIA

1. Kovari H, Ledergerber B, Battegay M, Rauch A, Hirschel B, Foguena AK, et al. Incidence and risk factors for chronic elevation of alanine aminotransferase levels in HIV-infected persons without hepatitis b or c virus co-infection. *Clin Infect Dis*. 2010 Feb 15;50(4):502–11.
2. Crum-Cianflone N, Collins G, Medina S, Asher D, Campin R, Bavaro M, et al. Prevalence and factors associated with liver test abnormalities among human immunodeficiency virus-infected persons. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2010 Feb;8(2):183–91.
3. Blanco F, Barreiro P, Ryan P, Vispo E, Martín-Carbonero L, Tuma P, et al. Risk factors for advanced liver fibrosis in HIV-infected individuals: role of antiretroviral drugs and insulin resistance. *J Viral Hepat*. 2011 Jan;18(1):11–6.
4. Sulkowski MS, Mehta SH, Torbenson M, Afdhal NH, Mirel L, Moore RD, et al. Hepatic steatosis and antiretroviral drug use among adults coinfecting with HIV and hepatitis C virus. *AIDS*. 2005 Mar 24;19(6):585–92.
5. McGovern BH, Ditelberg JS, Taylor LE, Gandhi RT, Christopoulos KA, Chapman S, et al. Hepatic steatosis is associated with fibrosis, nucleoside analogue use, and hepatitis C virus genotype 3 infection in HIV-seropositive patients. *Clin Infect Dis*. 2006 Aug 1;43(3):365–72.
6. Merchante N, Pérez-Camacho I, Mira JA, Rivero A, Macías J, Camacho A, et al. Prevalence and risk factors for abnormal liver stiffness in HIV-infected patients without viral hepatitis coinfection:

- role of didanosine. *Antivir Ther (Lond)*. 2010;15(5):753–63.
7. Ryom L, Lundgren JD, De Wit S, Kovari H, Reiss P, Law M, et al. Use of antiretroviral therapy and risk of end-stage liver disease and hepatocellular carcinoma in HIV-positive persons. *AIDS*. 2016 17;30(11):1731–43.
 8. Vispo E, Fernández-Montero JV, Labarga P, Barreiro P, Soriano V. Low risk of liver toxicity using the most recently approved antiretroviral agents but still increased in HIV-hepatitis C virus coinfecting patients. *AIDS*. 2013 Apr 24;27(7):1187–8.
 9. Sabin CA, Ryom L, Kovari H, Kirk O, de Wit S, Law M, et al. Association between ALT level and the rate of cardio/cerebrovascular events in HIV-positive individuals: the D: A: D study. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2013 Aug 1;63(4):456–63.
 10. Rancinan C, Neau D, Savès M, Lawson-Ayayi S, Bonnet F, Mercié P, et al. Is hepatitis C virus co-infection associated with survival in HIV-infected patients treated by combination antiretroviral therapy? *AIDS*. 2002 Jul 5;16(10):1357–62.
 11. Vogel M, Rockstroh JK. Hepatotoxicity and liver disease in the context of HIV therapy. *Curr Opin HIV AIDS*. 2007 Jul;2(4):306–13.
 12. Kovari H, Sabin CA, Ledergerber B, Ryom L, Reiss P, Law M, et al. Antiretroviral Drugs and Risk of Chronic Alanine Aminotransferase Elevation in Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Monoinfected Persons: The Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs Study. *Open Forum Infect Dis*. 2016 Jan;3(1):ofw009.

13. Taiwo BO. Nevirapine toxicity. *Int J STD AIDS*. 2006 Jun;17(6):364–9; quiz 370.
14. Giacomelli A, Riva A, Falvella FS, Oreni ML, Cattaneo D, Cheli S, et al. Clinical and genetic factors associated with increased risk of severe liver toxicity in a monocentric cohort of HIV positive patients receiving nevirapine-based antiretroviral therapy. *BMC Infect Dis*. 2018 Nov 12;18(1):556.
15. Sulkowski MS, Thomas DL, Mehta SH, Chaisson RE, Moore RD. Hepatotoxicity associated with nevirapine or efavirenz-containing antiretroviral therapy: role of hepatitis C and B infections. *Hepatology*. 2002 Jan;35(1):182–9.
16. Rivero A, Mira JA, Pineda JA. Liver toxicity induced by non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *J Antimicrob Chemother*. 2007 Mar;59(3):342–6.
17. Casado JL. Liver toxicity in HIV-infected patients receiving novel second-generation nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors etravirine and rilpivirine. *AIDS Rev*. 2013 Sep;15(3):139–45.
18. Sulkowski MS, Mehta SH, Chaisson RE, Thomas DL, Moore RD. Hepatotoxicity associated with protease inhibitor-based antiretroviral regimens with or without concurrent ritonavir. *AIDS*. 2004 Nov 19;18(17):2277–84.
19. Neukam K, Mira JA, Collado A, Rivero-Juárez A, Monje-Agudo P, Ruiz-Morales J, et al. Liver Toxicity of Current Antiretroviral Regimens in HIV-Infected Patients with Chronic Viral Hepatitis in a Real-Life Setting: The HEPAVIR SEG-HEP Cohort.

- PLoS ONE. 2016;11(2):e0148104.
20. Lepik KJ, Yip B, Ulloa AC, Wang L, Toy J, Akagi L, et al. Adverse drug reactions to integrase strand transfer inhibitors. *AIDS*. 2018 24;32(7):903–12.
 21. Taramasso L, Madeddu G, Ricci E, De Socio GV, Menzaghi B, Orofino G, et al. Raltegravir-based therapy in a cohort of HIV/HCV co-infected individuals. *Biomed Pharmacother*. 2015 Feb;69:233–6.
 22. Hurt CB, Napravnik S, Moore RD, Eron JJ. Hepatic safety and tolerability of raltegravir among HIV patients coinfecting with hepatitis B and/or C. *Antivir Ther (Lond)*. 2014;19(4):415–22.
 23. Vispo E, Mena A, Maida I, Blanco F, Cordoba M, Labarga P, et al. Hepatic safety profile of raltegravir in HIV-infected patients with chronic hepatitis C. *J Antimicrob Chemother*. 2010 Mar;65(3):543–7.
 24. DeJesus E, Rockstroh JK, Henry K, Molina J-M, Gathe J, Ramanathan S, et al. Co-formulated elvitegravir, cobicistat, emtricitabine, and tenofovir disoproxil fumarate versus ritonavir-boosted atazanavir plus co-formulated emtricitabine and tenofovir disoproxil fumarate for initial treatment of HIV-1 infection: a randomised, double-blind, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet*. 2012 Jun 30;379(9835):2429–38.
 25. Rockstroh JK, DeJesus E, Lennox JL, Yazdanpanah Y, Saag MS, Wan H, et al. Durable efficacy and safety of raltegravir versus efavirenz when combined with tenofovir/emtricitabine in treatment-naive HIV-1-infected patients: final 5-year results from STARTMRK. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2013 May 1;63(1):77–85.

26. Lennox JL, Landovitz RJ, Ribaud HJ, Ofotokun I, Na LH, Godfrey C, et al. Efficacy and tolerability of 3 nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-sparing antiretroviral regimens for treatment-naive volunteers infected with HIV-1: a randomized, controlled equivalence trial. *Ann Intern Med.* 2014 Oct 7;161(7):461–71.
27. Cahn P, Kaplan R, Sax PE, Squires K, Molina J-M, Avihingsanon A, et al. Raltegravir 1200 mg once daily versus raltegravir 400 mg twice daily, with tenofovir disoproxil fumarate and emtricitabine, for previously untreated HIV-1 infection: a randomised, double-blind, parallel-group, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet HIV.* 2017;4(11):e486–94.
28. Sax PE, DeJesus E, Mills A, Zolopa A, Cohen C, Wohl D, et al. Co-formulated elvitegravir, cobicistat, emtricitabine, and tenofovir versus co-formulated efavirenz, emtricitabine, and tenofovir for initial treatment of HIV-1 infection: a randomised, double-blind, phase 3 trial, analysis of results after 48 weeks. *Lancet.* 2012 Jun 30;379(9835):2439–48.
29. van Lunzen J, Maggiolo F, Arribas JR, Rakhmanova A, Yeni P, Young B, et al. Once daily dolutegravir (S/GSK1349572) in combination therapy in antiretroviral-naive adults with HIV: planned interim 48 week results from SPRING-1, a dose-ranging, randomised, phase 2b trial. *Lancet Infect Dis.* 2012 Feb;12(2):111–8.
30. Raffi F, Rachlis A, Stellbrink H-J, Hardy WD, Torti C, Orkin C, et al. Once-daily dolutegravir versus raltegravir in antiretroviral-naive adults with HIV-1 infection: 48 week results from the randomised, double-blind, non-inferiority SPRING-2 study. *Lancet.*

- 2013 Mar 2;381(9868):735–43.
31. Clotet B, Feinberg J, van Lunzen J, Khuong-Josses M-A, Antinori A, Dumitru I, et al. Once-daily dolutegravir versus darunavir plus ritonavir in antiretroviral-naive adults with HIV-1 infection (FLAMINGO): 48 week results from the randomised open-label phase 3b study. *Lancet*. 2014 Jun 28;383(9936):2222–31.
 32. Walmsley SL, Antela A, Clumeck N, Duiculescu D, Eberhard A, Gutiérrez F, et al. Dolutegravir plus abacavir-lamivudine for the treatment of HIV-1 infection. *N Engl J Med*. 2013 Nov 7;369(19):1807–18.
 33. Christensen ES, Jain R, Roxby AC. Abacavir/Dolutegravir/Lamivudine (Triumeq)-Induced Liver Toxicity in a Human Immunodeficiency Virus-Infected Patient. *Open Forum Infect Dis*. 2017;4(3):ofx122.
 34. Wang B, Abbott L, Childs K, Taylor C, Agarwal K, Cormack I, et al. Dolutegravir-induced liver injury leading to sub-acute liver failure requiring transplantation: a case report and review of literature. *Int J STD AIDS*. 2018;29(4):414–7.
 35. Squillace N, Ricci E, Quirino T, Gori A, Bandera A, Carezzi L, et al. Safety and tolerability of Elvitegravir/Cobicistat/Emtricitabine/Tenofovir Disoproxil fumarate in a real life setting: Data from surveillance cohort long-term toxicity antiretrovirals/antivirals (SCOLTA) project. *PLoS ONE*. 2017;12(6):e0179254.
 36. Gowda C, Newcomb CW, Liu Q, Carbonari DM, Lewis JD, Forde KA, et al. Risk of Acute Liver Injury With Antiretroviral

- Therapy by Viral Hepatitis Status. *Open Forum Infect Dis.* 2017;4(2):ofx012.
37. Cai J, Osikowicz M, Sebastiani G. Clinical significance of elevated liver transaminases in HIV-infected patients. *AIDS.* 2019 Jul 1;33(8):1267–82.
38. Shelburne SA, Hamill RJ, Rodriguez-Barradas MC, Greenberg SB, Atmar RL, Musher DW, et al. Immune reconstitution inflammatory syndrome: emergence of a unique syndrome during highly active antiretroviral therapy. *Medicine (Baltimore).* 2002 May;81(3):213–27.
39. Achenbach CJ, Harrington RD, Dhanireddy S, Crane HM, Casper C, Kitahata MM. Paradoxical immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV-infected patients treated with combination antiretroviral therapy after AIDS-defining opportunistic infection. *Clin Infect Dis.* 2012 Feb 1;54(3):424–33.
40. French MA. Antiretroviral therapy. Immune restoration disease in HIV-infected patients on HAART. *AIDS Read.* 1999 Nov;9(8):548–9, 554–5, 559–62.
41. French MA, Lenzo N, John M, Mallal SA, McKinnon EJ, James IR, et al. Immune restoration disease after the treatment of immunodeficient HIV-infected patients with highly active antiretroviral therapy. *HIV Med.* 2000 Mar;1(2):107–15.
42. John M, Flexman J, French MA. Hepatitis C virus-associated hepatitis following treatment of HIV-infected patients with HIV protease inhibitors: an immune restoration disease? *AIDS.* 1998 Dec 3;12(17):2289–93.

43. Zylberberg H, Pialoux G, Carnot F, Landau A, Bréchet C, Pol S. Rapidly evolving hepatitis C virus-related cirrhosis in a human immunodeficiency virus-infected patient receiving triple antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*. 1998 Nov;27(5):1255–8.
44. Carr A, Cooper DA. Restoration of immunity to chronic hepatitis B infection in HIV-infected patient on protease inhibitor. *Lancet*. 1997 Apr 5;349(9057):995–6.
45. Proia LA, Ngui SL, Kaur S, Kessler HA, Trenholme GM. Reactivation of hepatitis B in patients with human immunodeficiency virus infection treated with combination antiretroviral therapy. *Am J Med*. 2000 Feb 15;108(3):249–51.
46. Mastroianni CM, Trinchieri V, Santopadre P, Lichtner M, Forcina G, D'Agostino C, et al. Acute clinical hepatitis in an HIV-seropositive hepatitis B carrier receiving protease inhibitor therapy. *AIDS*. 1998 Oct 1;12(14):1939–40.
47. Velasco M, Morán A, Téllez MJ. Resolution of chronic hepatitis B after ritonavir treatment in an HIV-infected patient. *N Engl J Med*. 1999 Jun 3;340(22):1765–6.
48. Mitsumoto F, Murata M, Kato Y, Ura K, Takayama K, Hiramine S, et al. Hepatitis B virus-related immune reconstitution inflammatory syndrome in two patients coinfecting with human immunodeficiency virus diagnosed with a liver biopsy. *Intern Med*. 2014;53(18):2165–70.
49. Ratnam I, Chiu C, Kandala N-B, Easterbrook PJ. Incidence and risk factors for immune reconstitution inflammatory syndrome in an ethnically diverse HIV type 1-infected cohort. *Clin Infect Dis*. 2006

- Feb 1;42(3):418–27.
50. Nigro L, Romano F, Tosto S, Zagami A, Bruno S, Nunnari A. Severe hepatitis in a HIV-positive subject under treatment with protease inhibitor. *Ital J Gastroenterol Hepatol.* 1999 Feb;31(1):85–6.
 51. Yuniastuti E, Lee S, Gani RA, Saraswati H, Sundaru H, Lesmana LA, et al. Antibody and markers of T-cell activation illuminate the pathogenesis of HCV immune restoration disease in HIV/HCV co-infected patients commencing ART. *Clin Immunol.* 2011 Apr;139(1):32–9.
 52. Vento S, Garofano T, Renzini C, Casali F, Ferraro T, Concia E. Enhancement of hepatitis C virus replication and liver damage in HIV-coinfected patients on antiretroviral combination therapy. *AIDS.* 1998 Jan 1;12(1):116–7.
 53. Di Biagio A, Nicolini LA, Lorenzini P, Puoti M, Antinori A, Cozzi-Lepri A, et al. Liver enzyme elevation during darunavir-based antiretroviral treatment in HIV-1-infected patients with or without hepatitis C coinfection: data from the ICONA foundation cohort. *HIV Clin Trials.* 2014 Aug;15(4):151–60.
 54. Sulkowski MS, Thomas DL, Chaisson RE, Moore RD. Hepatotoxicity associated with antiretroviral therapy in adults infected with human immunodeficiency virus and the role of hepatitis C or B virus infection. *JAMA.* 2000 Jan 5;283(1):74–80.
 55. Dutertre M, Cuzin L, Demonchy E, Puglièse P, Joly V, Valantin M-A, et al. Initiation of Antiretroviral Therapy Containing Integrase Inhibitors Increases the Risk of IRIS Requiring Hospitalization. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2017 01;76(1):e23–6.

56. Kityo C, Szubert AJ, Siika A, Heyderman R, Bwakura-Dangarembizi M, Lugemwa A, et al. Raltegravir-intensified initial antiretroviral therapy in advanced HIV disease in Africa: A randomised controlled trial. *PLoS Med.* 2018;15(12):e1002706.
57. ICONA Foundation [Internet]. Available from: www.fondazioneicona.org
58. d'Arminio Monforte A, Lepri AC, Rezza G, Pezzotti P, Antinori A, Phillips AN, et al. Insights into the reasons for discontinuation of the first highly active antiretroviral therapy (HAART) regimen in a cohort of antiretroviral naïve patients. I.CO.N.A. Study Group. Italian Cohort of Antiretroviral-Naïve Patients. *AIDS.* 2000 Mar 31;14(5):499–507.
59. Vourli G, Pharris A, Cazein F, Costagliola D, Dabis F, Del Amo J, et al. Are European HIV cohort data within EuroCoord representative of the diagnosed HIV population? *AIDS.* 2019 27;33(1):133–43.
60. Prati D, Taioli E, Zanella A, Della Torre E, Butelli S, Del Vecchio E, et al. Updated definitions of healthy ranges for serum alanine aminotransferase levels. *Ann Intern Med.* 2002 Jul 2;137(1):1–10.
61. PubMed [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>
62. European Association for the Study of the Liver. Electronic address: easloffice@easloffice.eu, European Association for the Study of the Liver. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of alcohol-related liver disease. *J Hepatol.* 2018;69(1):154–81.

63. Taramasso L, Cenderello G, Riccardi N, Tunesi S, Di Biagio A. Role of Raltegravir in patients co-infected with HIV and HCV in the era of direct antiviral agents. *New Microbiol.* 2017 Oct;40(4):227–33.
64. Curtis L, Nichols G, Stainsby C, Lim J, Aylott A, Wynne B, et al. Dolutegravir: clinical and laboratory safety in integrase inhibitor-naive patients. *HIV Clin Trials.* 2014 Oct;15(5):199–208.
65. de Boer MGJ, van den Berk GEL, van Holten N, Oryszczyn JE, Dorama W, Moha DA, et al. Intolerance of dolutegravir-containing combination antiretroviral therapy regimens in real-life clinical practice. *AIDS.* 2016 28;30(18):2831–4.
66. Bonfanti P, Madeddu G, Gulminetti R, Squillace N, Orofino G, Vitiello P, et al. Discontinuation of treatment and adverse events in an Italian cohort of patients on dolutegravir. *AIDS.* 2017 28;31(3):455–7.
67. Borghetti A, Baldin G, Capetti A, Sterrantino G, Rusconi S, Latini A, et al. Efficacy and tolerability of dolutegravir and two nucleos(t)ide reverse transcriptase inhibitors in HIV-1-positive, virologically suppressed patients. *AIDS.* 2017 28;31(3):457–9.
68. Cid-Silva P, Llibre JM, Fernández-Bargiela N, Margusino-Framiñán L, Balboa-Barreiro V, Pernas-Souto B, et al. Clinical Experience with the Integrase Inhibitors Dolutegravir and Elvitegravir in HIV-infected Patients: Efficacy, Safety and Tolerance. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2017 Nov;121(5):442–6.
69. Elzi L, Erb S, Furrer H, Cavassini M, Calmy A, Vernazza P, et al. Adverse events of raltegravir and dolutegravir. *AIDS.* 2017

- 24;31(13):1853–8.
70. Hoffmann C, Welz T, Sabranski M, Kolb M, Wolf E, Stellbrink H-J, et al. Higher rates of neuropsychiatric adverse events leading to dolutegravir discontinuation in women and older patients. *HIV Med.* 2017;18(1):56–63.
71. Peñafiel J, de Lazzari E, Padilla M, Rojas J, Gonzalez-Cordon A, Blanco JL, et al. Tolerability of integrase inhibitors in a real-life setting. *J Antimicrob Chemother.* 2017 01;72(6):1752–9.
72. Martín-Carbonero L, Núñez M, González-Lahoz J, Soriano V. Incidence of liver injury after beginning antiretroviral therapy with efavirenz or nevirapine. *HIV Clin Trials.* 2003 Apr;4(2):115–20.
73. Di Biagio A, Cozzi-Lepri A, Prinapori R, Angarano G, Gori A, Quirino T, et al. Discontinuation of Initial Antiretroviral Therapy in Clinical Practice: Moving Toward Individualized Therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2016 Mar 1;71(3):263–71.
74. Di Biagio A, Lorenzini P, Gustinetti G, Rusconi S, De Luca A, Lapadula G, et al. Durability of Second Antiretroviral Regimens in the Italian Cohort Naive Antiretrovirals Foundation Study and Factors Associated with Discontinuation. *AIDS Patient Care STDS.* 2017 Dec;31(12):487–94.
75. Taramasso L, Di Biagio A, Maggiolo F, Tavelli A, Lo Caputo S, Bonora S, et al. First-line antiretroviral therapy with efavirenz plus tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine or rilpivirine plus tenofovir disoproxil fumarate/emtricitabine: a durability comparison. *HIV Med.* 2018 May 30;
76. Lapadula G, Costarelli S, Chatenoud L, Castelli F, Astuti N,

- Di Giambenedetto S, et al. Risk of Liver Enzyme Elevation During Treatment With Ritonavir-Boosted Protease Inhibitors Among HIV-Monoinfected and HIV/HCV-Coinfected Patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2015 Jul 1;69(3):312–8.
77. de Castro N, Braun J, Charreau I, Lafeuillade A, Viard J-P, Allavena C, et al. Incidence and risk factors for liver enzymes elevations in highly treatment-experienced patients switching from enfuvirtide to raltegravir: a sub-study of the ANRS-138 EASIER trial. *AIDS Res Ther*. 2016;13:17.
78. Platt L, Easterbrook P, Gower E, McDonald B, Sabin K, McGowan C, et al. Prevalence and burden of HCV co-infection in people living with HIV: a global systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2016 Jul;16(7):797–808.
79. Sabin CA. Pitfalls of assessing hepatotoxicity in trials and observational cohorts. *Clin Infect Dis*. 2004 Mar 1;38 Suppl 2:S56-64.
80. Kaspar MB, Sterling RK. Mechanisms of liver disease in patients infected with HIV. *BMJ Open Gastroenterol*. 2017;4(1):e000166.
81. Iser DM, Avihingsanon A, Wisedopas N, Thompson AJ, Boyd A, Matthews GV, et al. Increased intrahepatic apoptosis but reduced immune activation in HIV-HBV co-infected patients with advanced immunosuppression. *AIDS*. 2011 Jan 14;25(2):197–205.
82. Cicconi P, Cozzi-Lepri A, Phillips A, Puoti M, Antonucci G, Manconi PE, et al. Is the increased risk of liver enzyme elevation in patients co-infected with HIV and hepatitis virus greater in those

- taking antiretroviral therapy? AIDS. 2007 Mar 12;21(5):599–606.
83. Pufall EL, Kall M, Shahmanesh M, Nardone A, Gilson R, Delpech V, et al. Sexualized drug use ('chemsex') and high-risk sexual behaviours in HIV-positive men who have sex with men. HIV Med. 2018;19(4):261–70.
84. Ndumbi P, Freidl GS, Williams CJ, Mårdh O, Varela C, Avellón A, et al. Hepatitis A outbreak disproportionately affecting men who have sex with men (MSM) in the European Union and European Economic Area, June 2016 to May 2017. Euro Surveill. 2018;23(33).
85. University of Liverpool. HIV Drug Interactions Checker [Internet]. Available from: <https://www.hiv-druginteractions.org>
86. Taramasso L, Lorenzini P, Di Biagio A, Lichtner M, Marchetti G, Rossotti R, et al. Incidence and risk factors for liver enzyme elevation among naive HIV-1-infected patients receiving ART in the ICONA cohort. J Antimicrob Chemother. 2019 Nov 1;74(11):3295–304.