

# Terapêutica anti-retroviral na infecção a VIH (1ª parte)

Eugénio Teófilo\*

## Resumo

*Faz-se uma breve revisão sobre a imunofisiopatologia da infecção pelo VIH. Abordam-se os fármacos que se encontram em investigação clínica mais avançada e alguns que poderão ter interesse futuro. Destacam-se os compostos actualmente disponíveis para uso clínico, tentando abordar os aspectos que na prática clínica são mais importantes. Referenciam-se ensaios clínicos quanto à eficácia nestas drogas em monoterapia ou combinação.*

**Palavras chave:** terapêutica anti-retroviral, resistência, terapêutica combinada.

## Abstract

*VIH infection immunopathogenesis is briefly described. An approach to some of several compounds currently investigated is done. Clinically relevant drugs are focused more comprehensively. Clinical trials on combination therapy are referenced.*

**Key words:** antiretroviral therapy, resistance, combination therapy.

## Introdução

Desde a descrição dos primeiros casos de pneumocistose, em 1981, até ao presente, a infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) passou do flagelo dos 4 Hs (Homossexuais, Heroínómanos, Hemofílicos e Haitianos) para uma pandemia de dimensões difíceis de avaliar e de consequências imprevisíveis.

A negligência política da maioria dos governos fez com que só quando se tornou visível que a comunidade heterossexual também se encontrava em risco se tivessem iniciado campanhas de prevenção em grande escala e se

apoiasse a investigação numa forma séria; vários anos de pesquisa e prevenção foram assim delapidados e mais alguns milhares de mortos acresceram nas estatísticas.

Numa década, vários compostos mostraram *in vitro* e alguns *in vivo* alguma actividade antiviral para o VIH. Centenas de compostos estão a ser experimentados laboratorialmente e escassas dezenas encontram-se em ensaios clínicos. No entanto, encontramos-nos ainda longe do fármaco ideal que erradique a infecção com poucos efeitos adversos. Mesmo que um composto com estas qualidades fosse descoberto não estaria certamente disponível num dos locais onde mais seria necessário, a África.

## Imunofisiopatologia e alvos terapêuticos da infecção a VIH

Presentemente encontram-se descritos dois tipos de vírus VIH-1 e VIH-2 (fig. 1), com padrões epidemiológicos diferentes mas com evolução clínica semelhante.

Numa pessoa com infecção pelo VIH mais do que um único tipo de vírus vamos encontrar um grupo heterogéneo de vírus, resultante das pequenas mutações que vão surgindo ao longo da infecção. Embora o tropismo celular seja uma característica dominante, nem todas as células infectadas pelo VIH exprimem o receptor CD4, como é o caso dos condrócitos humanos, dos fibroblastos do prepúcio, das células sinoviais e de cinco linhas celulares de hepatomas humanos que, apesar de não expressarem o referido receptor, são susceptíveis de infecção pelo vírus<sup>1,4</sup>. Encontram-se presentemente descritos quatro receptores celulares que permitem a infecção do hospedeiro pelo VIH: o receptor CD4, a Gal-C (galactosil ceramida existente em células do SNC e intestino), o receptor da porção Fc das imunoglobulinas (Igs) e o receptor do complemento<sup>5</sup>.

Após a interacção entre a proteína do invólucro viral gp120 e o receptor celular dá-se a fusão das membranas e passagem do conteúdo viral (RNA e as várias enzimas necessárias para a sua integração no genoma celular - transcriptase reversa, ribonucleases e integrases) para o interior da célula.

Uma vez no interior o RNA do VIH é transcrito em DNA através da acção da transcriptase reversa, formando-se uma cadeia dupla híbrida de RNA-DNA; a ribonuclease conduz à cisão do RNA ficando uma cadeia simples de DNA que através da DNA, polimerase se duplica. O DNA de cadeia dupla migra para o núcleo onde através da actuação da integrase, é inserida no DNA da célula do hospedeiro, passando a fazer parte integrante do seu genoma.

Quando a sequência viral é transcrita forma-se o RNA viral e o RNAm que codifica as proteínas virais (do «core», do invólucro e as enzimas) as quais se agrupam no citoplasma juntando-se ao RNA viral para formarem novos vírus que, sendo libertados, irão infectar outras células.

\* Interno do Internato Complementar de Medicina Interna  
Serviço 3 - Hospital de Santo António dos Capuchos

Em várias destas etapas é possível a intervenção terapêutica de modo a tentar, senão eliminar, pelo menos reduzir a produção de partículas virais infectantes (fig. 2).

O linfócito CD4+ tem sido o alvo principal de interesse na evolução desta infecção. Segundo a teoria clássica, a infecção directa destas células pelo VIH conduziria à sua destruição e desmoraonamento do sistema imunitário. Recentemente surgiram novas concepções de como se efectua a destruição daquelas células e se dá o colapso da imunidade. Ao contrário do que se pensava, após a infecção primária o VIH rapidamente deixa a circulação para se localizar ao sistema linfóide, nomeadamente nos gânglios linfáticos (o que se confirmou por PCR *in situ* para o DNA, calculando-se que 30% dos CD4+ do tecido linfóide estejam infectados embora só 1 em cada 400 com replicação viral activa, o que se detecta pela positividade para a PCR *in situ* para o RNA viral)<sup>6-9</sup>. Nestes gânglios, onde se encontra a esmagadora maioria dos linfócitos T, encontram-se outro tipo de células (as dendríticas foliculares, no centro germinal, e as dendríticas interdigitadas no paracórtex) que são indispensáveis para a apresentação de antígenos aos linfócitos CD4+ e B e para a formação de células de memória, bem como viabilidade das já existentes. Embora o VIH não infecte estas células, a deposição das suas proteínas à sua superfície poderia conduzir à disfunção e posterior morte daquelas células. Por seu lado o desaparecimento deste tipo de células poderia desenca-

dear a morte celular programada (MCP) das células CD4+ e CD8+<sup>9</sup>. A MCP (que *in vitro* se traduz morfológicamente pela apoptose) é um mecanismo fisiológico que tem um papel essencial na embriogénese; no adulto desempenha papeis importantes no sistema imunitário, impedindo a proliferação de células potencialmente lesivas (autoimunes) ou sem capacidade de maturação (e daí inúteis). Esta morte programada pode ser induzida por uma série de citocinas (e expressão de alguns genes), bem como pela ausência de outras<sup>10</sup>.

Assim, ao infectar ou desregular vários tipos de células acessórias (mas indispensáveis ao bom funcionamento do sistema imunitário), o VIH conduziria à depleção de células CD4+ e CD8+. O papel destas últimas tem sido mais valorizado, havendo um subgrupo CD8+CD28+ que produz uma citocina (ainda sem nome) que é capaz de suprimir a replicação viral dentro das CD4+ sem as destruir; com o avançar da infecção essa capacidade vai-se perdendo, possibilitando o aumento da replicação viral e a emergência de estirpes mais virulentas (como as indutoras de sincícios)<sup>5,11</sup>.

A MCP tem sido implicada, para além da depleção dos linfócitos CD4+, como mecanismo importante no desenvolvimento da atrofia muscular e leucoencefalopatia multifocal progressiva associadas à infecção pelo VIH.

Outros autores demonstraram que algumas proteínas do envólucro (gp120) podem causar disfunção das células

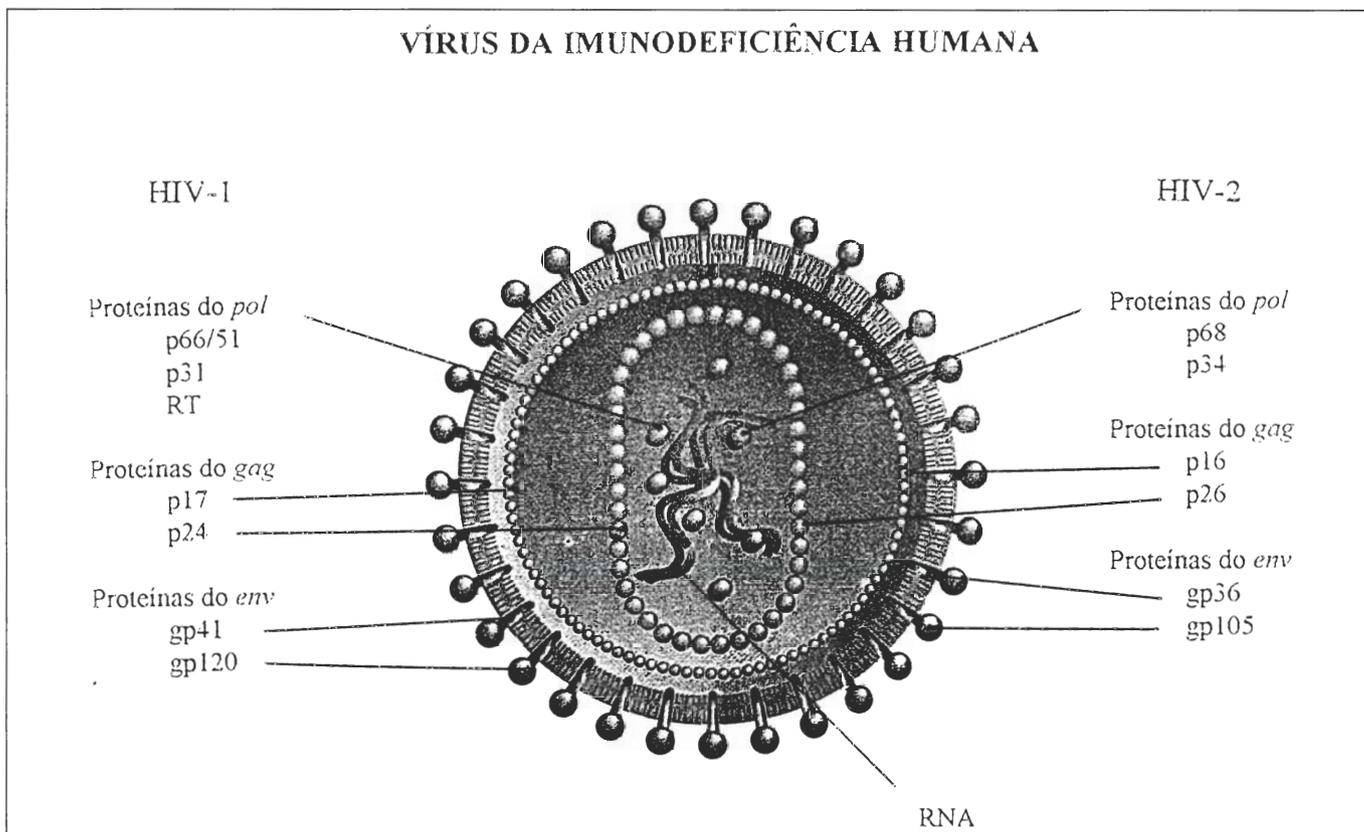


Figura 1

CD4+ apenas por se depositarem à superfície daqueles linfócitos<sup>12</sup>.

As células CD4+ podem ser subdivididas em dois grupos, consoante as citocinas que produzem em TH1 e TH2. Assim, as TH1 produzem IL-2 e IFN- $\gamma$  e estimulam a imunidade celular enquanto que às TH2 produzem IL-4 e IL-10 e estimulam a imunidade humoral. A infecção latente dentro dos monócitos, por desregulação da produção de citocinas (aumento de produção do TNF- $\alpha$  e diminuição da IL-1),<sup>13,14</sup> contribuiria, por um lado, para a MCP de células CD4+ e CD8+<sup>15</sup> e, por outro, para a transição do predomínio TH1 para TH2 com o conseqüente enfraquecimento da imunidade celular<sup>16-20</sup>.

## Alvos terapêuticos

### Agentes que actuam na fase extracelular da infecção

Constitui um grupo heterogêneo de produtos que têm como objectivo impedir a interacção VIH-receptor celular.

Não parecem ser eficazes como agentes únicos, mas poderão ter um papel importante numa estratégia de terapêutica combinada, tendo-se já demonstrado sinergismo *in vitro* entre alguns destes compostos a ZDV e o IFN- $\alpha$ <sup>21</sup>.

### CD4 solúvel recombinante (CD4sr)

Impede a fixação do vírus ao seu receptor, mas não se exclui a hipótese de que possa interferir com a introdução do «core» na célula. No entanto, a sua eficácia em se ligar à gp120 do VIH-2 é bastante inferior do que à do VIH-1. Este tipo de moléculas não interfere com as interacções entre os linfócitos T (comunicação dentro do sistema imunitário).

Os efeitos da administração deste composto não causou melhoria nos marcadores laboratoriais de progressão de doença. Pensa-se que o principal problema desta terapêutica é a sua curta semivida, o que implicaria administração endovenosa contínua<sup>22,23</sup>.

### Imunoadesinas

Surgiram da união da especificidade de ligação do CD4sr com a fracção efectora duma imunoglobulina.

Usou-se a porção Fc da IgG1<sup>24-26</sup> que foi escolhida devido à sua longa semivida e por possuir locais de ligação para o complemento. A sua semivida era 200 vezes superior à do CD4sr, mas não ligavam o C1q da cascata do complemento. Parecem prevenir a morte celular causada pelo VIH, sem, no entanto, afectar a capacidade de proliferação celular; também facilitariam a destruição de células infectadas por fagocitose ou citotoxicidade celular

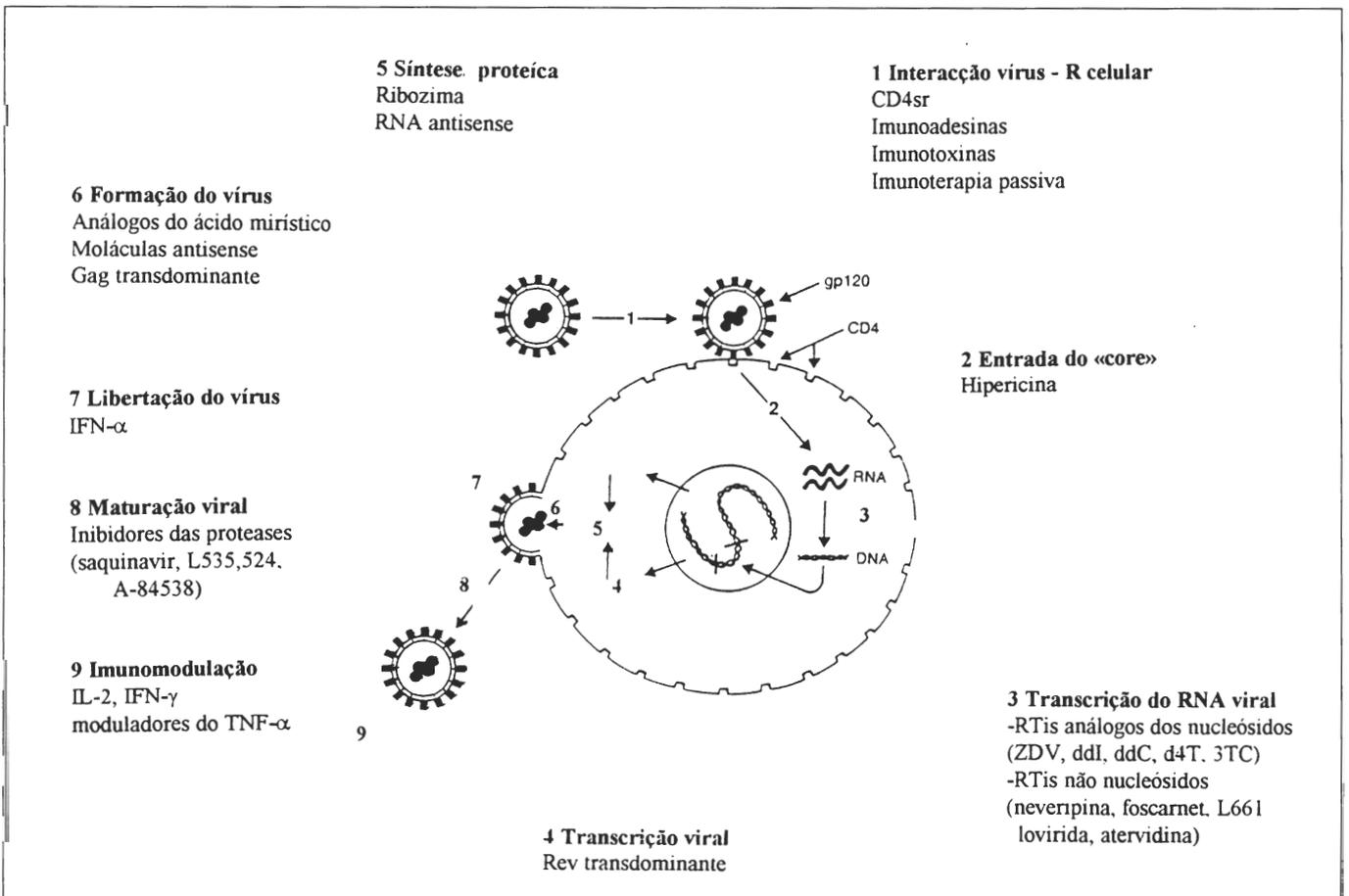


Figura 2: Esquemas dos potenciais alvos terapêuticos na infecção pelo VIH

mediada por anticorpos (ADCC)<sup>27</sup>. Não houve indícios de que se facilitasse a infecção de células que expressam receptores de alta afinidade para o Fc. Atravessam a barreira placentária, o que poderia conferir protecção aos fetos de mulheres seropositivas.

Produziram-se outras moléculas, como a forma pentâmero da químera CD4-IgM, que, nos testes de formação de sincícios parece ser muito eficaz.

Em ensaios clínicos não causaram efeitos adversos e registou-se estabilidade dos marcadores laboratoriais de progressão.

## Imunotoxinas

As imunotoxinas consistem na junção dum composto com a capacidade de se ligar a uma célula (anticorpos, hormonas ou factores de crescimento) com uma toxina (vegetal ou bacteriana) ou sua subunidade.

A ricina é uma toxina de origem vegetal constituída por duas cadeias: a A que tem a capacidade de inactivar os ribossomas e a B que serve de ligando celular; após purificação da cadeia A (inicialmente hepatotóxica) procedeu-se à sua junção com CD4sr. O conceito teórico é o de ao se ligar à gp120 na superfície celular, este conjunto imunotoxina-gp120 seria endocitado e, uma vez libertada no citoplasma da célula infectada, a **cadeia A da ricina** iria bloquear os ribossomas e a síntese proteica<sup>28</sup>.

*In vitro* observou-se citotoxicidade elevada, para as células H9 infectadas com o VIH. Esta toxina foi também conjugada com a cadeia leve *k* dum IgG específica para a gp41, proteína altamente conservada que só é expressa pelas células infectadas. A adição de cloroquina ao meio potenciava 100 vezes a citotoxicidade desta imunotoxina para as células H9 e U327 infectadas com o VIH.

Outra toxina usada tem sido a **exotoxina A das Pseudomonas (PEA)** com a capacidade de interferir com a síntese proteica. Sintetizaram-se formas recombinantes CD4-PE40, que demonstraram ser altamente citotóxicas para as células infectadas com o VIH. No entanto a inibição da replicação viral foi incompleta<sup>24,29</sup>.

Uma das limitações para o uso terapêutico destes compostos tem sido que os linfócitos T infectados, bem como os monócitos, podem não expressar proteínas virais à superfície além de que estas proteínas se podem depositar à superfície de células não infectadas.

## Imunoterapia passiva

O princípio de utilizar a imunoterapia passiva na infecção pelo VIH baseia-se no sucesso do uso de imunoglobulinas (Igs) humanas específicas na profilaxia de doenças causadas por agentes tais como: CMV, HBV, HAV, etc., após uma eventual exposição. As técnicas de produção de anticorpos monoclonais e da do DNA recombinante permitiriam o uso de grandes quantidades de Igs altamente

específicas conferindo um elevado índice de protecção (de preferência usando associações de Igs específicas para epítomos diferentes do mesmo agente)<sup>21</sup>.

**Anticorpos anti-gp120** - todos os anticorpos protectores (neutralizantes) detectados nesta infecção são específicos para a gp120, nomeadamente para dois domínios desta proteína, os anti-ansa V3 e os anti-local de ligação ao CD4. Estes anticorpos, embora presentes nos indivíduos infectados, não atingem concentrações suficientes para serem eficazes<sup>30</sup>.

Os resultados dos ensaios clínicos envolvendo esta forma de imunoterapia (mas utilizando plasma inactivado de pessoas infectadas) foram inconclusivos, com relatos de diminuição do Agp24, do número de infecções oportunistas, melhoria de parâmetros laboratoriais e dos índices da escala de Karnofsky<sup>31</sup>. Os resultados inconclusivos podem ser atribuídos ao uso de plasma de seropositivos, portanto com baixos títulos de anticorpos muitos dos quais sem carácter neutralizante.

A utilização de diferentes anticorpos neutralizantes, ao dificultar a emergência de estirpes com mutações nas proteínas do invólucro, poderá diminuir a frequência de aparecimento de mutantes (e resistências).

**Anticorpos anti-p24** - alguns autores<sup>32</sup> utilizaram plasma de seropositivos rico neste anticorpo e obtiveram não só melhorias nos marcadores laboratoriais de progressão como também diminuição de patologias definidoras de SIDA.

**Anticorpos anti-CD4** - o receptor CD4 possui várias regiões susceptíveis para os anticorpos monoclonais; assim o anticorpo monoclonal contra o domínio 1 preveniria a interacção com a gp120. No entanto os anticorpos contra os domínios 2 e 3 bloqueariam a infeciosidade após a ligação vírus-receptor celular. Como estes anticorpos não são dirigidos contra as porções do receptor CD4 envolvidas na interacção CD4-MHC (Complexo Major de Histocompatibilidade), não haveria, teoricamente, risco de disfunção nos fenómenos de comunicação entre as células do sistema imunitário<sup>21</sup>.

**PASSHIV-1** - alguns autores utilizaram anticorpos porcinos dirigidos contra proteínas do invólucro (gp160, gp120, gp41) do core (p24, p55) e da polimerase (p66, p53). Este soro hiperimune foi produzido através da administração a porcos dum lisado de VIH (contendo as proteínas já referidas). Num trabalho realizado com pessoas infectadas com o VIH (estadio CDC B ou C) os efeitos adversos foram mínimos (reação urticariforme num doente). Ao sexto mês de seguimento relataram-se melhorias nos marcadores laboratoriais da doença (Agp24 e CD4+) e clínicos com regressão da febre, candidíase oral, bronquite e polineuropatia periférica. A maioria dos doentes revelou melhoria do apetite e observou-se aumento de peso em todo o grupo, que atingiu no máximo 8.6 Kg<sup>33</sup>.

## **Agentes que actuam na fase intracelular da infecção**

### **Inibidores da transcriptase reversa (RTIs)**

Dado que o VIH é um retrovírus, para que possa infectar uma célula é necessário que o seu RNA seja convertido em DNA o qual pode ser integrado no genoma celular. Para tal transporta uma enzima, a transcriptase reversa (RT), que tem por função esta conversão. A RT é um heterodímero constituído por duas unidades formado pela clivagem (mediada pela protease) da poliproteína codificada pelos genes *gag-pol*.

Um óbice deste tipo de inibidores é o de que para serem eficazes tem que haver replicação activa dentro das células (ou seja, só são eficazes para evitar que se infectem novas células). Diversos autores mostraram por PCR *in situ* para o RNA viral que o número de células nessas condições no seropositivo assintomático é mínima, o que vem questionar o uso destes compostos nesta situação<sup>6,9</sup>.

Este grupo de fármacos, os inibidores da transcriptase reversa (RTIs) reparte-se em duas famílias: a dos **análogos dos nucleósidos** (que tem uma estrutura semelhante às unidades básicas dos ácidos nucleicos - os nucleósidos) e os **não-nucleósidos** (todos com estrutura diferente entre si e sem analogia com a estrutura dos nucleósidos).

### **RTIs análogos dos nucleósidos**

Muitos análogos das pirimidinas e purinas têm demonstrado actividade antiviral contra os retrovírus (fig. 3).

É deste grupo que faz parte o primeiro fármaco que se mostrou ter utilidade clínica no tratamento da infecção pelo VIH - a Zidovudina (ZDV).

Os análogos dos nucleósidos são fosforilados progressivamente pelas enzimas citoplasmáticas até à forma 5'-trifosfato (forma activa) que competirá com o substrato natural para se ligar à RT viral (e às DNA polimerases do hospedeiro).

O seu mecanismo de acção é duplo: por um lado são inibidores directos da RT (ligam-se a ela impedindo a sua actividade) na sua forma monofosfato; por outro lado na sua forma trifosfato são integrados no DNA em formação, pela RT, funcionando como codões de terminação, pois a falta do radical 3'-OH necessário para a formação da ligação 3'-5'-fosfodiéster indispensável à adição de outro nucleósido deixa de estar disponível, resultando assim em cadeias de DNA do VIH incompletas que não são funcionais.

A sua eficácia depende da sua capacidade de penetração nos vários tipos de células infectadas e da possibilidade destas metabolizarem estes compostos até à sua forma activa (trifosfato). Explica-se assim a diminuição de

eficácia de alguns didesoxinucleósidos ao nível da linha monocito-macrofágica.

A toxicidade destes compostos resulta da capacidade de inibirem o funcionamento da RT sem afectarem as DNA polimerases do hospedeiro, que são essenciais à multiplicação celular.

## **Análogos da timidina**

### **Zidovudina**

Trata-se dum análogo da desoxitimidina, em que o radical hidróxilo (OH) foi substituído por um átomo de azoto, daí o nome azidotimidina (AZT).

Para além da sua actividade sobre a RT do VIH a ZDV-TP também inibe, embora mais fracamente a DNA polimerase do HBV (sem utilidade clínica), o mesmo acontecendo com o EBV, HTLV I e vários vírus que causam imunodeficiência em animais. É ainda activa contra bactérias gram negativas (nomeadamente enterobactérias) mas com desenvolvimento muito rápido de resistências.

A biodisponibilidade oral é de 60%, devido ao efeito de primeira passagem hepática com glucoronidação num metabolito inactivo excretado por via renal. Em doentes com insuficiência renal a semivida da ZDV só aumenta discretamente pois é a forma inactiva que é excretada pelo rim<sup>34</sup>. Nos doentes com patologia hepática, nomeadamente cirrose, como a capacidade de metabolização pode estar comprometida a semivida pode aumentar significativamente necessitando, por isso, de ajuste de dose<sup>35</sup>.

Encontra-se em concentrações 10-20 vezes superiores às do sangue, no esperma, mas isso não confere protecção quanto à transmissão, não havendo sequer uma diminuição da quantidade de vírus neste fluido<sup>36</sup>.

O aumento dos linfócitos CD4+, do peso e da sensação de bem estar, bem como a diminuição do Agp24 e a melhoria das funções neurológicas podem todas ocorrer dentro das primeiras duas semanas de terapêutica. Registou-se ainda reversão da anergia cutânea. Em vários estudos clínicos apesar da melhoria nos marcadores laboratoriais de progressão, o número de infecções oportunistas entre o grupo ZDV e o placebo só diferiram significativamente a partir das 8 semanas de terapêutica, o que revela que a recuperação de alguma capacidade imunitária poderá ser independente e tardia relativamente aos referidos marcadores de progressão<sup>36,37</sup>.

A ZDV reverte parcialmente e atrasa a progressão das disfunções cognitivas (demonstradas por testes neuropsicométricos como os da memória e da atenção) e diminui significativamente a incidência do complexo demencial associado à SIDA (ADC). A zidovudina reduz significativamente a ocorrência de infecção produtiva no cérebro, sendo responsável pela diminuição dos casos de encefalite, ADC e leucoencefalopatia multifocal progressiva

(PML)<sup>38</sup>. A penetração da ZDV no LCR parece ser independente da dose o que poderá explicar a sua eficácia, mesmo em baixas doses, na prevenção e tratamento das perturbações neurológicas associadas à SIDA<sup>39</sup>.

Outro efeito descrito tem sido a melhoria da trombocitopenia associada à infecção pelo VIH; desconhece-se qual o mecanismo de acção, mas, no entanto, tem sido referida uma eventual acção anti-inflamatória e mesmo imunossupressora da zidovudina que *in vitro* diminui a resposta das células mononucleares do sangue periférico aos mitógenos e inibe o crescimento celular. Este efeito antiproliferativo assemelhar-se-ia ao dos corticóides e agentes imunossupressores<sup>40</sup> e poderia explicar a sua acção benéfica em situações associadas à infecção pelo VIH como a trombocitopenia imune, a leucoencefalopatia e a psoríase, embora, nem sempre a etiologia destas patologias se possa considerar autoimune<sup>41</sup>.

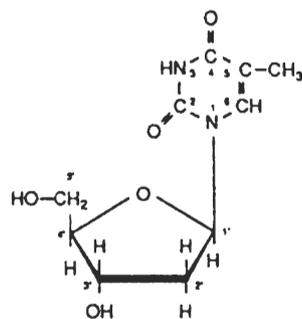
A transmissão vertical do VIH relaciona-se com o tempo de gestação sendo maior o risco no último trimestre de gravidez, se a infecção materna se efectuar no período puerperal, no parto eutócico e com imunossupressão ma-

terna avançada<sup>42,43</sup>. Este risco variaria entre 20 e 30%. No entanto, num estudo em que se administrou ZDV à mãe no período antenatal o risco de transmissão diminuiu 50%<sup>44,45</sup>.

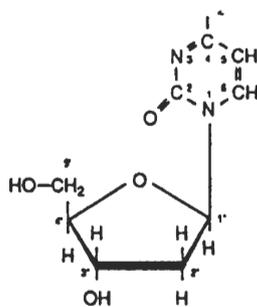
Ao fim de 6 meses de terapêutica com ZDV surge, nalguns casos, resistência associada à inaptidão da RT incorporar nucleósidos trifosfatos com radicais 3'-azido, fazendo-o contudo com os outros (daí que sejam sensíveis ao ddI ou ddC).

O efeito adverso mais frequentemente atribuído à ZDV tem sido a mielossupressão, com a anemia a encabeçar a lista. Este efeito é dose – dependente, surgindo nos primeiros ensaios em 25% das pessoas (contra 4% no grupo placebo) verificando-se geralmente macrocitose, valores normais ou aumentados de eritropoietina sérica e hipoplasia medular (o que justifica o efeito tóxico medular directo). A neutropenia surgiu em 15% das pessoas (contra 2% no grupo placebo). A associação com outros fármacos pode potenciar esse efeito; a mais conhecida é com o ganciclovir. No caso duma infecção oportunista grave em que seja necessário o uso de fármacos mielotóxicos (fase de

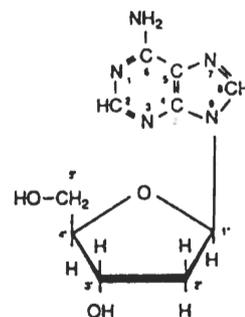
## DIDESONUCLEÓSIDO FISIOLÓGICO



(2'-desoxi) timidina (dT)

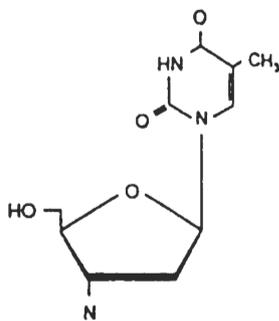


2-desoxicitidina (dC)

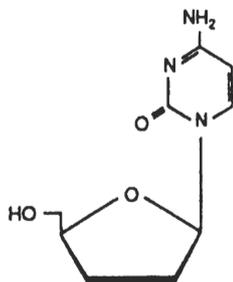


2'-desoxiadenosina (dA)

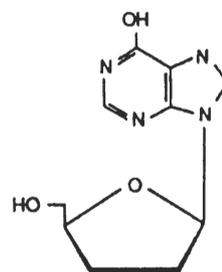
## ANTI-RETROVIRAL ANÁLOGO



3'-azido, 3'-desoxitimidina (AZT/ZDV)



2',3'-desoxicitidina (ddC)



2',3'-didesoxinosina (ddI)

Figura 3: Comparação da estrutura química dos análogos dos nucleósidos e dos nucleósidos fisiológicos

indução do ganciclovir, por exemplo) dever-se-á suspender a ZDV<sup>36</sup>.

Uma síndrome miosite – «like» tem sido descrita, caracterizada por parestesias, mialgias, edema, atrofia muscular e aumento da LDH e CPK, em doentes sob terapêutica prolongada com ZDV. Esta situação parece ser mais frequente nos doentes com infecção mais avançada, pois o próprio VIH pode causar esta patologia. Daí que os dois possam ter efeitos aditivos sobre o músculo. Esta miopatia da ZDV aparentemente cursa com depleção do DNA mitocondrial e poderá estar em relação com a inibição da DNA polimerase  $\gamma$  por parte do fármaco.

Outros efeitos adversos são as náuseas, insónias, cefaleias intensas e hepatotoxicidade (mas a maioria das pessoas tinha infecções concomitantes a CMV ou micobactérias). Houve relatos esporádicos de convulsões. A coloração negra das unhas é o efeito adverso mais frequentemente observado na raça negra.

Os efeitos adversos mielotóxicos podem ser controlados ou com a diminuição da dose (500 para 300 mg/d)<sup>46</sup> ou com factores de crescimento hematopoiéticos (EPO se EPO endógena < 500 mUI; G-CSF/GM-CSF se neutropénia grave). Por vezes torna-se necessário suspender a administração do fármaco. Se isto ocorrer em mais do que três ocasiões dever-se-á ponderar a suspensão definitiva e mudança para outro RTi.

*Van Luzen et al.* aferiram a capacidade blastogénica dos linfócitos T em presença da ZDV e concluíram que nos indivíduos assintomáticos aquele fármaco diminui marcadamente a blastogénese comparativamente aos doentes sintomáticos onde o efeito principal é o da diminuição da carga viral<sup>47</sup>. Problemático tem sido o uso de ZDV na infecção primária (por exemplo após uma picada num objecto infectado). O seu uso nessa situação poderá impedir a resposta imune inicial contra o VIH (diminui a linfocitose CD8+ inicial), aumentar o risco de progressão<sup>48</sup> e eventualmente poder-se-á mesmo correr o risco de seleccionar estirpes resistentes à ZDV.

Desde 1989, com base nos resultados dos ensaios ACTG 016 e ACTG 019 que evidenciavam uma diminuição da infecção para doença sintomática, que se aconselhava a administração de ZDV a todos os indivíduos infectados com menos de 500 linfócitos CD4+, mesmo que assintomáticos. Em Abril de 93, as conclusões preliminares do estudo «Concorde»<sup>49</sup> (Inglaterra/França/Irlanda, o maior até hoje realizado, e o com maior seguimento de sempre) referiam que a ZDV não era eficaz em atrasar a progressão da infecção assintomática para a fase sintomática (CRS, SIDA, ou morte).

Da mesma forma se concluiu que o efeito antiviral da ZDV parece ser transitório, actuando durante um ou dois anos; a confirmação e publicação do estudo surgiu em Abril de 94<sup>50</sup>. Estes resultados foram contestados por alguns autores devido a ter havido alterações no braço do

tratamento deferido (placebo) em que a partir de 1989 até 92, 27% dos intervenientes tomaram ZDV. No entanto os autores do «Concorde» e vários outros<sup>51</sup> afirmam que a quantidade de ZDV tomada pelos dois braços do estudo é tão diferente que as conclusões são lícitas. Em Março de 94 o Grupo Europeu-Australiano publicou um estudo (017) no qual foi administrada ZDV 500 mg/d durante 104 semanas, a 329 indivíduos infectados pelo VIH em estadios assintomáticos, com CD4+ entre 200-400 x 10<sup>3</sup>/ml. Ao fim de um ano de seguimento a progressão para CRS avançado ou SIDA era significativamente maior no grupo placebo (P=0.01). No entanto, ao fim de dois anos, essa diferença não apresentava significância estatística (P=0.26)<sup>52</sup>.

Outra das conclusões do estudo «Concorde» é o da iniquabilidade dos linfócitos CD4+ como marcador para monitorização da progressão de doença e dos ensaios clínicos, visto que apesar da melhoria no valor global dos linfócitos CD4+ que a ZDV induzia, em termos clínicos as pessoas infectadas progrediam na mesma. Não sendo possível definir um valor a partir do qual se deveria iniciar a ZDV nos seropositivos assintomáticos, estes autores referem que, a existir, seria para linfócitos CD4+ inferior a 300 x 10<sup>3</sup> células/ml<sup>50</sup>.

Recentemente surgiu também um estudo que pretende avaliar a qualidade de vida das pessoas assintomáticas sob terapêutica com ZDV<sup>53</sup> e outro em que se avalia o benefício/custo da terapêutica com ZDV nos assintomáticos<sup>54</sup>. No primeiro tomou-se como população os indivíduos que participaram no ACTG 019 e comparou-se uma bateria de efeitos adversos graves em três grupos de pessoas assintomáticas: placebo, ZDV 500 mg/d e ZDV 1500 mg/d durante 18 meses. Nesta análise os autores referem que o valor do tempo vivido após um efeito adverso não é igual ao do período sem sintomas de doenças ou toxicidade, mas que isso varia com o doente e o efeito adverso manifestado e concluem que para os infectados assintomáticos a redução na qualidade de vida devido a efeitos adversos graves da terapêutica, iguala o aumento da qualidade de vida associada ao atraso na progressão da doença a VIH.

Esta polémica mantém-se, pois em estudo recente *Cooper et al.* analisaram os efeitos da ZDV em seropositivos com sistema imune pouco afectado (CD4+ entre 500 e 749 ce/ $\mu$ l), tendo concluído pela diminuição da progressão para doença sintomática<sup>55</sup>. Outros autores não confirmam esta hipótese nos seropositivos assintomáticos com CD4+ < 500 cel/ $\mu$ l<sup>56-58</sup>.

## Flutamidina

A FLT, fluorotimidina ou 3'-fluoro-ddT é um derivado da timidina, por substituição do radical azotado da azidotimidina por flúor. É mais potente do que a zidovudina *in vitro* e é activo nas estirpes resistentes àquele fármaco. A mielotoxicidade continua a ser o efeito adverso limitante e segundo alguns autores, a descida marcada do número

de reticulócitos seria predictiva de futura anemia<sup>3,21</sup>. Recentemente os ensaios clínicos com este fármaco foram suspensos por possível contribuição para dois casos de insuficiência hepática aguda.

### Estavudina

A 2',3'-didesihidro-2',3'-didesoxitimidina (d4T) é igualmente um análogo da timidina mas com uma cinética de ativação (a trifosfato) diferente da da zidovudina. Aparentemente tão potente quanto a ZDV é, no entanto, menos tóxica que esta e actua nos vírus que são resistentes a aquele fármaco.

Tem uma boa biodisponibilidade oral ( $\pm 85\%$ ); excreção renal e não renal (50% do fármaco recuperado inalterado na urina) o que a distingue da ZDV e ddI que são de excreção predominantemente não renal e do ddC cuja excreção é basicamente renal.

Os picos plasmáticos atingem concentrações bem acima das necessárias para o efeito antiviral, mas as do vale (na administração tripartida) são inferiores, o que causa alguma preocupação devido ao hipotético surgimento de resistências<sup>59</sup>.

Houve melhoria dos marcadores laboratoriais de progressão às 24 semanas: descida do Agp24 e elevação mantida das células CD4+. Em termos clínicos houve melhoria no peso, febre, sudorese nocturna e fadiga e ainda nalguns casos resolução da diarreia<sup>60</sup>.

A d4T é mais potente do que a ZDV na inibição das polimerases  $\beta$  (RT, portanto maior poder antiviral) e  $\gamma$  (maior risco de neurotoxicidade pois trata-se da polimerase mitocondrial).

A dose recomendada é 2 mg/Kg/d repartida em três ou quatro administrações. Com esta quantidade os efeitos secundários parecem ser reduzidos. No entanto a neuropatia periférica e a hepatotoxicidade têm sido registados. Com doses mais altas (4-8 mg/Kg/d) registou-se anemia<sup>61</sup>.

O aparecimento da neuropatia parece depender não só da dose como da repartição da mesma: o aumento da dose diária de 1 mg/Kg duplicava o risco, enquanto duas administrações em vez de três quadruplicava o mesmo. Isto acontece provavelmente devido à boa biodisponibilidade oral do fármaco: maior intervalo com maior dose pode expor os tecidos a picos bastante mais elevados e mais tóxicos.

A dose cumulativa de d4T e o aparecimento da neuropatia só se associava com a forma de dosagem (para a mesma dose diária o risco quando se toma bipartido é quádruplo do tripartido)<sup>60,62-64</sup>. Segundo dados da companhia produtora, nos Estados Unidos até Outubro de 93, no programa de acesso alargado, 9165 doentes tinham tido acesso ao fármaco. A toxicidade mais frequente foi a neuropatia periférica (63 casos), seguida de náuseas e vômitos (15), calafrios (13) e diarreia

(12). Aparentemente, segundo outro estudo da companhia, a estavudina pode ser administrada com o ddI sem toxicidade aumentada (ambos causam neuropatia periférica).

A ZDV inibe a fosforilação da d4T, o que contraindica o uso da terapêutica combinada ZDV + d4T pois a primeira droga inibiria a passagem à forma activa da segunda. Em Agosto de 94 foi aprovada pela FDA para uso nos EUA.

## Análogos da adenosina

### Didanosina

É a didesoxinosina (ddI), que é convertida em didesoxiadenosina (ddAMP), por sua vez fosforilada até didesoxiadenosina trifosfato (ddATP) que é incorporada, pela RT, na cadeia de DNA viral em formação, conduzindo à sua terminação precoce<sup>36</sup>.

A didanosina é extremamente vulnerável ao meio ácido, daí que para que seja absorvida por via oral o conteúdo gástrico tenha que ser alcalino.

A biodisponibilidade oral oscila entre 20-40%. Tem uma semivida plasmática curta (0.6-1.4h) mas o seu metabolito activo, o ddATP tem uma semivida intracelular de 12 horas o que permite a sua administração apenas duas vezes por dia.

Dado que 30 a 65% do fármaco é excretado inalterado na urina, em doentes com insuficiência renal (Ccreat < 5 ml/m) dever-se-á reduzir a dose 2-3 vezes e só administrar no fim da hemodiálise. A penetração no LCR é má com a administração oral e não parece ter o benefício na melhoria dos sintomas neurológicos como os observados com a ZDV.

A dose actual recomendada varia de acordo com o peso: > 75 Kg 300 mg/12-12h, 50-74 Kg 200 mg/12-12h e < 50 Kg 125 mg/12-12h; (a dose referida é para os comprimidos; os comprimidos mastigáveis são 20-25% mais absorvidos que as saquetas. No entanto são necessários sempre pelos menos dois comprimidos para se atingir a quantidade de tampão suficiente para neutralizar o pH gástrico).

A administração simultânea com alimentos diminui bastante a sua absorção (daí que se tenha que tomar em jejum, 1.5 horas antes ou 2 horas depois das refeições) e o uso simultâneo de ranitidina não a aumenta. Fármacos que necessitem de meios ácidos para serem absorvidos (dapsona, ketoconazol) devem ser administradas com intervalos de duas horas de separação. As formulações que contêm magnésio ou alumínio diminuem a absorção das quinolonas e tetraciclina pelo que não devem ser tomadas simultaneamente<sup>29,65</sup>.

A didanosina aumenta, transitoriamente tal como a ZDV e zalcitabina, o número das células CD4+, diminui o Agp24, a  $\beta 2$ microglobulina e melhora os valores hematológicos

## Análogos da citosina

### Zalcitabina

A 2'-3'didesoxicidina é um análogo das pirimidinas e tal como os restantes membros desta família necessita de ser fosforilado para ser activo (metabolito activo - 2',3'-didesoxicidina trifosfato, o ddCTP).

Das várias DNA polimerases humanas a DNA polimerase  $\alpha$  (envolvida na síntese) é relativamente resistente enquanto as DNA polimerases  $\beta$  (reparação e RT) e a  $\gamma$  (mitocondrial) são mais susceptíveis à inibição pelo ddCTP. Daí os efeitos adversos da zalcitabina.

A relação desoxicidina trifosfato/zalcitabina trifosfato (substrato natural/fármaco activo) é baixa dentro dos monócitos e macrófagos, o que permite um melhor poder antiviral no interior daquela linha celular (são precisamente as células onde a ZDV e ddI têm maior dificuldade em actuar).

Tem uma boa biodisponibilidade oral (88%), diminuindo significativamente quando administrada com alimentos. A maior parte do fármaco é eliminado inalterado na urina (sem metabolismo hepático), aumentando o seu período de excreção na insuficiência renal. A dose actualmente recomendada varia entre 0.375-0.750 mg/8-8h.

A zalcitabina não melhorou significativamente a anergia cutânea em nenhum dos ensaios clínicos. Muitos dos doentes não acabaram a sua participação nos ensaios clínicos devido aos efeitos adversos (neuropatia) ou por aparecimento de elementos clínicos de progressão de doença<sup>73</sup>.

*In vitro* a zalcitabina inibe as células progenitoras da medula óssea, em concentrações bastante inferiores às da actividade antiviral. No entanto nos ensaios clínicos não se tem demonstrado mielotoxicidade significativa.

Os efeitos adversos mais comuns são a neuropatia periférica, rash cutâneo, estomatite aftosa, febre, neutropénia, trombocitopénia, artrite, artralgia e, raramente, pancreatite e miocardiopatia. A neuropatia é a complicação mais frequente, manifestando-se nos pés e mãos cerca de oito semanas após início da terapêutica; é dose dependente. Inicia-se por parestesias (tipo ardor e picadas) nos pés e posteriormente em 50% dos casos desenvolvem-se os mesmos sintomas nas mãos. Nas doses mais altas a neuropatia não regrediu um ano após a suspensão do fármaco. Noutros doentes houve intensificação dos sintomas logo após a suspensão e depois um desaparecimento progressivo. O rash também é característico, surge no tronco e extremidades, é dose – dependente e aparece ao fim de duas semanas de terapêutica, associando-se a úlceras orais e por vezes febre. As hemocitopénias são mais frequentes nos regimes alternando zalcitabina com zidovudina do que na terapêutica contínua com zalcitabina, mas podem também surgir nesta situação<sup>21,36,74</sup>.

(Hb, GB, linfócitos e neutrófilos). Em termos clínicos descreveram-se melhorias na sensação de bem estar dos doentes, nos sintomas constitucionais (febre, emagrecimento e sudação nocturna), tricoleucoplasia oral, funções cognitivas e recuperação da hipersensibilidade retardada nos indivíduos anérgicos<sup>66-68</sup>. A eficácia parece ser menor nos indivíduos já com SIDA.

As manifestações de toxicidade que mais frequentemente implicam redução de dose são a neuropatia periférica e a pancreatite, embora sejam infrequentes para dosagens inferiores a 13 mg/Kg/d. A diarreia tem sido frequentemente referida mas parece ser mais uma complicação dos tampões usados para neutralizar o pH gástrico.

A toxicidade para as células da medula óssea surgem a concentrações 100 vezes maiores do que as da ZDV e 10 vezes maiores do que as do ddC.

Nos estudos de fase I 34% dos indivíduos desenvolveram neuropatia periférica com doses iguais ou inferiores às actualmente recomendadas. Parece que a dose cumulativa necessária para o desenvolvimento da neuropatia é de 1.5 a 2 g/Kg. A causa parece ser a inibição da replicação do DNA mitocondrial e esta complicação parece reverter 2-12 semanas após a suspensão do fármaco. A pancreatite ocorreu em 9% dos indivíduos tomando doses iguais ou inferiores às recomendadas (os casos fatais foram de 0.39%) e o risco parece correlacionar-se com história prévia de pancreatite, doença a VIH avançada, mau estado clínico e com terapêuticas concomitantes pancreatotóxicas (pentamidina e cotrimoxazol). Deve-se evitar o uso da didanosina em doentes com factores de risco para doença pancreática (além das já descritas, alcoólicos, dislipidémias) e monitorizar frequentemente a amilase, lipase e triglicéridos (estão descritos aumentos substanciais destes antes de pancreatite clínica). Menos frequentemente foram descritos: mialgias (miosite), cefaleias, xerostomia, acatísia, insónias e dores abdominais. Em casos muito raros surgiram: insuficiência cardíaca (grande aporte de sódio pelos tampões usados), hepatite (depleção dos depósitos de glicogénio), aumento do QT, nevrite óptica, rash e hipocalcémia<sup>29,50,68,69</sup>.

Tal como com a ZDV ao fim de algum tempo de terapêutica surgem resistências<sup>71,72</sup>.

A combinação com outros agentes antivirais é na maioria dos casos sinérgica. A sua adição à ZDV parece prolongar o período de eficácia, talvez por atrasar o desenvolvimento de resistências. Curioso foi o resultado da associação com a ribavarina, que diminui a actividade antiviral da ZDV e que por ser um inibidor da IMP desidrogenase conduz a um aumento do ddATP (o metabolito activo da didanosina) com conseqüente aumento da eficácia da didanosina; pelo contrário o GM-CSF que potencia a ZDV, diminui a eficácia da didanosina e zalcitabina. O G-CSF e a eritropoietina não mostraram qualquer interferência<sup>29</sup>.

Também se desenvolvem resistências à zalcitabina, mas talvez seja mais demorado o seu aparecimento do que para a ZDV e ddI.

Demonstrou-se *in vitro* sinergismo entre a zalcitabina e o IFN- $\alpha$ , CD4 solúveis, dextran sulfato, dipiridamol e zidovudina; por outro lado houve antagonismo na associação com a ribavirina e o GM-CSF.

### Lamivudina

A 2'-desoxi-3'-tiacitidina, ou 3TC, é mais um análogo desta pirimidina. *In vitro* demonstrou um bom poder antiviral, com actividade em estirpes resistentes à ZDV, e com um bom perfil de citotoxicidade.

Aparentemente bastante inócua a Lamivudina (300 mg/12-12h) causou apenas urticária e cefaleias. É bem tolerada em monoterapia ou em associação com a ZDV<sup>75</sup>.

A biodisponibilidade oral é de 82%, com excreção maioritariamente renal (70% da dose é recuperada inalterada na urina). O derivado trifosfato (forma activa) tem uma semivida intracelular entre 11-14h.

Tem uma fraca aptidão para a polimerase  $\gamma$  pelo que a neurotoxicidade é mínima<sup>76</sup>. Decorrem os ensaios clínicos de fase II.

### Outros análogos dos desoxinucleósidos

Houve empresas que criaram bibliotecas de análogos dos nucleósidos que tinham sido produzidos para a terapêutica antivírica e antineoplásica. Daí que tenham sido sintetizadas centenas destes compostos, dezenas dos quais demonstraram actividade antiretroviral *in vitro* e possivelmente alguns irão ser alvo de ensaios clínicos; Eis alguns: didesoxiguanosina (ddG), os derivados 3'-azido da guanosina (AZG), várias pirimidinas como, azidodesoxiuridina e os derivados fluorados (3'-fluoro) do ddG<sup>77</sup>. A Burroughs Wellcome iniciou na Europa (Dinamarca, França, Alemanha, Itália, Países Baixos, Espanha e Reino Unido) os ensaios fase II para um novo RTi análogo dos nucleósidos o FCU (935U83), que tem uma potência nove vezes inferior à ZDV, mas que é 1300 vezes menos tóxico. *In vitro* é activo contra estirpes resistentes à ZDV e ao ddI

### RTis não nucleósidos

Contrariamente aos didesoxinucleósidos a sua estrutura não é semelhante à das unidades básicas dos ácidos nucleicos, pelo que não são usados «erradamente» pela RT e incorporados no DNA em formação. Estes compostos ligam-se directamente à enzima impedindo-a de actuar, não havendo portanto inibição por competição (não se ligam ao centro activo). Têm a vantagem de não necessitarem de ser metabolizados para serem activos (como é o caso dos didesoxinucleósidos que têm que ser fosforilados a compostos trifosfatados).

Como grupo, são estruturalmente muito díspares, possuem um bom índice terapêutico, que reflecte a sua alta especificidade. São específicos para o VIH-1 não exercendo qualquer actividade no VIH-2 ou no SIV.

Várias classes de compostos representam este grupo: benzodiazepinonas (dibenzo, monopirido e dipiridodiazepinonas), antraquinonas, ácido fosfonofórmico, HPA-23, suramina, flavonoides, derivados da catecina, etc.

Desenvolvem-se resistências rapidamente algumas semanas após o seu uso. Algumas mutações (nomeadamente nas posições 103 e 181 da RT), conferem resistência de alto grau não só ao fármaco em questão mas também a todos os outros RTis não nucleósidos (resistência cruzada), o que apoia a ideia de actuarem num mesmo local da enzima.

Quando utilizados em conjunto com a ZDV não surgem aquelas resistências e se administrados a vírus resistentes à ZDV ao fim de algum tempo estes voltam a ser sensíveis zidovudina.

### Nevirapina

Tem boa biodisponibilidade oral e uma semivida plasmática de 24h (na dose 400 mg/d). Baixa toxicidade e actividade antiviral potente *in vitro*<sup>78</sup>.

Dado o fácil aparecimento de resistência aos RTis não nucleósidos, têm-se procurado associações com outros compostos nomeadamente ZDV, IFN- $\alpha$  e as imunoadesinas, sem se registar aparecimento de novas toxicidades ou combinação de toxicidades<sup>79</sup>. Com doses superiores aos 400 mg/d, apesar de mais efeitos adversos (rashes), levaria mais tempo a surgir resistência<sup>21</sup>.

### Compostos L- L697,661 (L661)

Trata-se duma família de compostos derivados das pironas. Tal como os outros RTis não nucleósidos, é eficaz em pequenas concentrações (nanomolares, IC50 - 100 nmol/l).

Tem uma baixa biodisponibilidade oral (2-2.5%), mas que pode ser aumentada pelos alimentos (aumenta 10 vezes se tomada a meio da refeição). Sofre efeito de primeira passagem no fígado. Não há dados relativamente à passagem da barreira hematoencefálica. A dose é de 600 mg/d.

Tal como os outros não nucleósidos, desenvolvem-se resistências em monoterapia a curto prazo (por vezes seis semanas), nomeadamente a mutação na posição 108 (tirosina  $\rightarrow$  citosina) da RT que causa alta resistência. Aparentemente estas resistências não surgem na terapêutica combinada havendo ensaios a decorrer L661 + ZDV (ACTG 0191 - EUA e em Frankfurt)<sup>21,80</sup>.

### Lovirida

Composto pertencente ao grupo  $\alpha$ -APA, cujo o fármaco mais recente é o R 89 439, a lovirida.

Os ensaios clínicos de fase I revelaram a diarreia (13%), a fadiga (12%) e alteração do aspecto da urina (12%) como sendo os efeitos adversos mais frequentes.

Os marcadores laboratoriais de progressão da doença revelaram melhoria (aumento dos CD4+). Ao fim de três meses foram feitas culturas de vírus (18 culturas em 65 participantes) não se tendo observado a mutação na posição 181; outras mutações menos importantes foram pesquisadas (posições 98 e 179) não tendo também sido encontradas. Aguardam-se os resultados do ensaio fase II que decorre na Bélgica<sup>81,82</sup>.

## Foscarnet

Este sal trissódico do ácido fosfonofórmico tem actividade antiviral que se estende a quase todos os elementos da família dos vírus herpes, inibindo a DNA polimerase de 5 herpesvírus (HSV I e II, VZV, EBV e CMV).

O foscarnet também inibe a transcriptase reversa numa forma não competitiva com os nucleósidos trifosfatados, tal como faz com as DNA polimerases dos vírus herpes. A biodisponibilidade oral é má (17%), não se atingindo por esta via concentrações mínimas para o efeito antiviral. A penetração no LCR é variável. Não é metabolizado, sendo eliminado inalterado na urina (83% às 36 horas) havendo uma parte que é sequestrada no osso (por substituição de fosfato na matriz óssea) e que é eliminado muito mais lentamente.

Os efeitos adversos mais frequentes são: nefrotóxicos, hematológicos e metabólicos. A infusão contínua, bem

como patologia renal prévia e drogas nefrotóxicas (aciclovir, pentamidina, cotrimoxazol e cetoconazol) predis põem a uma maior toxicidade renal. A repartição da dose (180 mg/Kg/d) em três infusões de duas horas cada, a hidratação prévia (2.5L de soro fisiológico/d) e o ajustamento da mesma para a Ccreat, diminuem a toxicidade.

As alterações metabólicas mais frequentes são a hipocalcémia (que pode ser perigosamente agravada pela pentamidina), devido ao foscarnet quelar o cálcio ionizado (surtem sintomas de hipocalcémia com valores de cálcio normais) e a hiperfosfatémia que surge devido ao foscarnet substituir o fosfato no osso.

Recentemente têm sido descritas lesões ulcerativas no pênis (na glândula, subprepuciais) e que parecem ser causadas pela alta concentração de foscarnet na urina que fica acumulada debaixo do prepúcio.

Esta capacidade de inibição da RT parece estar associada à vantagem na sobrevida que o foscarnet tem sobre o ganciclovir no tratamento da retinite a CMV nos doentes com SIDA (16 semanas).

A replicação do VIH é inibida sinergisticamente pelas associações foscarnet-IFN- $\alpha$  e foscarnet-zidovudina<sup>83,84</sup>.

***Na segunda parte deste artigo serão abordados os antagonistas do TAT, os diversos inibidores da protease, os interferões, a IL-2, os moduladores do TNF- $\alpha$ , a terapêutica combinada, a terapêutica genética e as vacinas terapêuticas***

## Bibliografica

1. Werner A, Winskowsky G, Cichutek K et al. Productive infection of both CD4+ and CD4- human cell lines with HIV-1, HIV-2 and SIV. *AIDS* 1990; 4: 537.
2. Ikeuchi K, Kim S, Byrn RA et al. Infection of nonlymphoid cells by human immunodeficiency virus type 1 or type 2. *J Virol* 1990; 64: 4226.
3. Clapham PR, Weber JN, Whitby D et al. Soluble CD4 blocks the infectivity of diverse strains of HIV and SIV for T cells and monocytes but not for brain and muscle cells. *Nature* 1989; 337: 1989.
4. Cao Yz, Friedman-Kien, Haung YX et al. CD4-independent, productive human immunodeficiency virus type 1 infection of hepatoma cell lines in vitro. *J Virol* 1990; 64: 2553.
5. Levy JA. HIV pathogenesis and long-term survival. *AIDS* 1993; 7: 1401-1410.
6. Lefeuvre A et al. High viral burden in lymph nodes during early stages of HIV infection. *AIDS* 1993; 7: 1527.
7. Howard MT, Bolognesi DP. Where has HIV been hiding? *Nature* 1993; 362: 292-293.
8. Pantaleo G et al. *Nature* 1993; 362: 355-358.
9. Nuovo GJ, Becker J, Burk MW et al. In situ detection of PCR-amplified HIV-1 nucleic acids in lymph nodes and peripheral blood in patients with asymptomatic HIV-1 infection and advanced stage AIDS. *Journal of AIDS* 1994; 7: 916-923.
10. Ameisen. Programmed cell death (apoptosis) and cell survival regulation: relevance to AIDS and cancer. *AIDS* 1994; 8: 1197-1213.
11. Choremi-Papadopoulou H, Viglis V, Gargalianos P et al. Down-regulation of CD28 surface antigen on CD4+ and CD8+ T lymphocytes during HIV-1 infection. *Journal of AIDS* 1994; 7: 245-253.
12. Theodore AC, Kornfeld H, Wallace RP et al. CD4 modulation of noninfected T lymphocytes by HIV-1 envelope glycoprotein gp120: contribution to the immunosuppression seen in HIV-1 infection by induction of CD4 and CD3 unresponsiveness. *Journal of AIDS* 1994; 7: 899-907.
13. Embretson G et al. *Nature* 1993; 363: 359-362.
14. Matsuyama T et al. Cytokines and HIV infection: is AIDS a tumor necrosis factor disease. *AIDS* 1991; 5: 1405-1417.
15. Gougeon ML, Montagnier L. Apoptosis in AIDS. *Science* 1993; 260(5112): 1269-1270.
16. Fauci AS. Immunopathogenesis of HIV infection. *Journal of AIDS* 1993; 6(6): 655-662.
17. Weiss RA. How does HIV cause AIDS? *Science* 1993; 260(5112): 1273-79.
18. Pantaleo G, Graziosi C, Fauci AS. New concepts in the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1993; 328(5): 327-335.

19. Epstein FH. The molecular biology of human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med* 1991; 324(5): 308-17.
20. Bednarik DP, Folks TM. Mechanisms of HIV Latency. *AIDS* 1992; 6: 3-16.
21. Yeni P, Schooley R, Hammer S. Antiretroviral and immune-based therapies: update. *AIDS* 1993; 7(sup 1): S173-S184.
22. Schooley RT et al. Recombinant soluble CD4 therapy in patients with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and AIDS-related complex. *Ann Int Med* 1990; 112: 247-252.
23. Kahn JO et al. The safety and pharmacokinetics of recombinant soluble CD4 (rCD4) in subjects with the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and AIDS-related complex. *Ann Int Med* 1990; 112: 254-261.
24. Gomatos PJ, Stamos NM and Schooley RT. Soluble Cd4, Immunomodulators, Immunotoxins and other Approaches to Anti-HIV Therapy. in de Vita ed AIDS: Etiology, Diagnosis, Treatment and Prevention 1992, JB Lippincott.
25. Capon DJ, Ward RH. Antiviral effects of CD4 derivatives. *Curr Opi Immunol* 1990; 2:433.
26. Traunacker A, Schneider J, Kiefer H et al. Highly efficient neutralization of HIV recombinant CD4-immunoglobulin molecules. *Nature* 1989; 339: 68.
27. Byrn RA, Meordenti J, Lucas C et al. Biological properties of immunoadhesin. *Nature* 1990; 344: 667.
28. Matsushita S, Koito A, Maeda Y et al. Selective killing of HIV-infected cells by anti gp120 immunotoxins. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1990; 6: 193.
29. Focus on Didanosine. *Drugs* 1992; 44(1): 100.
30. Zolla-Pazner S, Gorny MK. Passive immunization for the prevention and treatment of HIV infection. *AIDS* 1992; 6: 1235-1248.
31. Allaway GP, Ryder AM, Beaudry G et al. Synergistic inhibition of HIV-1 envelope mediated cell fusion by CD4-based molecules in combination with antibodies to gp120 or gp41. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1993; 9(7): 581-587.
32. Lefrere JJ., Vittecoq D. and the French Passive Immunotherapy Collaborative Study Group; resumo O50 - 4th European Conference on Clinical Aspects and Treatment of HIV Infection, Milão - Março 94.
33. Osther K et al. Passhiv-1 treatment of patients with HIV-1 infection. A preliminary report of a Phase I trial hyperimmune porcine immunoglobulin to HIV-1. *AIDS* 1992; 6: 1457-1465.
34. Burger DM et al. Drug interactions with zidovudine. *AIDS* 1993; 7: 445-460.
35. Fischl MA. State of antiretroviral therapy with zidovudine. *AIDS* 1989; 3(suppl 1): S137-S141.
36. Richman DD. Azidothymidine and other deoxynucleoside analogues. in de Vita ed AIDS: Etiology, Diagnosis, Treatment and Prevention 1992, JB Lippincott.
37. Wood AJJ. Therapy for human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1993; 328: 1686-1695.
38. Gray F et al. Zidovudine therapy and HIV encephalitis: a 10-year neuropathological survey. *AIDS* 1994; 8: 489-494.
39. Burger DM et al. Penetration of zidovudine into the cerebrospinal fluid of patients infected with HIV. *AIDS* 1993; 7: 1581-1588.
40. Stricker RB, Elwood BF. Immunosuppressive effect of zidovudine (letter). *Ann Int Med* 1993; 118: 571-572.
41. McLeod GX, Hammer SM. Immunosuppressive effect of zidovudine (response). *Ann Int Med* 1993; 118: 572.
42. Roques P. et al. Correlation between HIV provirus burden and in utero transmission. *AIDS* 1993; 7(sup): S39-S43.
43. Rouzioux C. et al. Timing of mother-to-child HIV-1 transmission depends on maternal status. *AIDS* 1993; 7(sup): S49-S52.
44. European Collaborative Study. Caesarean section and the risk of vertical transmission of HIV. *Lancet* 1994; 343: 1464-1467.
45. Centers for Disease Control and Prevention. Zidovudine for the prevention of HIV transmission from mother to infant. *MMWR* 1994; 43: 285-287.
46. Nordic Medical Research Councils' HIV Therapy Group. Double blind dose-response study of zidovudine in AIDS and advanced HIV infection. *BMJ* 1992; 304: 13-17.
47. Van Luzen Schmitz J, Schmitz H et al. Nucleoside analogues suppress viral replication in patients with high virus load in vitro but interfere with T-cell blastogenesis in earlier stages of HIV-infection. Resumo O40 4th European Conference on Clinical Aspects and Treatment of HIV Infection, Milão - Março 94.
48. Tindall B et al. Administration of zidovudine during primary HIV-1 infection may be associated with a less vigorous immune response. *AIDS* 1993; 7: 127.
49. Aboulker JP, Swart AM. Preliminary analysis of the Concorde trial, *Lancet* 1993; 341: 889-890.
50. Concorde coordinating committee, Concorde: MCR/ANRS randomised double-blind controlled trial of immediate and deferred zidovudine in symptom free HIV infection. *Lancet* 1994; 343: 871-881.
51. Lipsky JJ. Concorde Lands. *Lancet* 1994; 343: 866-867.
52. Mulder JW, Cooper DA, Mathiesen L et al. Zidovudine twice daily in asymptomatic subjects with HIV infection and a high risk of progression to AIDS: a randomized, double-blind placebo-controlled study. *AIDS* 1994; 8: 313-322.
53. Lenderking WR, Gelber RD, Cotton DJ et al. Evaluation of the quality of life associated with zidovudine treatment in asymptomatic human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1994; 330(11): 738-743.
54. Oddone EZ, Cowper D, Hamilton JD et al. Cost effectiveness analysis of early zidovudine treatment in HIV infected patients. *BMJ* 1993; 307: 1322-1325.
55. Cooper DA, Gatell JM, Kroon S et al. Zidovudine in Persons with Asymptomatic HIV Infection and CD4+ Cell Counts Greater Than 400 Per Cubic Millimeter. *N Engl J Med* 1993; 329: 297-303.
56. Lundgren J, Phillips A, Pedersen C and the AIDS in Europe Study Group. Comparison of the Long-term Prognosis of AIDS Patients Treated and Not Treated with Zidovudine; resumo O35 - 4th European Conference on Clinical Aspects and Treatment of HIV Infection, Milão - Março 94.
57. Mannucci MP, Gringeri G, Gatenby P, and the European-Australian Haemophilia Collaborative Study Group. Randomized Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Twice-Daily Zidovudine in Asymptomatic Haemophiliacs Infected with the Human Immunodeficiency Syndrome Virus Type 1; resumo O36 - 4th European Conference on Clinical Aspects and Treatment of HIV Infection, Milão - Março 94.
58. Graham NMH, Zeger SL, Park LP et al. The effects on survival of early treatment of human immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1992; 326: 1037-1042.
59. Dudley MN, Graham KK, Kaul S et al. Pharmacokinetics of Stavudine in Patients with AIDS or AIDS-Related Complex. *J Inf Dis* 1992; 166: 480-485.
60. Browne MJ, Mayer KH, Chafee SB et al. 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxythymidine (d4T) in Patients with AIDS or AIDS-Related Complex: A Phase I Trial. *J Inf Dis* 1993; 167: 21-29.

61. Hitchcock MJM. 2',3'-Didehydro-2',3'-dideoxythymidine (d4T), an anti-HIV agent. *Ant Chem & Chemot* 1991; 2(3): 125-132.
62. Bret-smith H, Griffith B, Mellors J et al. Effect of d4T in HIV Viremia. Abstract PoB3011, VIII International Conference on AIDS, Amsterdam 1992.
63. Dudley MN, Horton C, Kaul S et al. Effect of Dose and Schedule on CD4 Cell Increase with Stavudine (d4T): an Integrated Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Analysis. Abstract PoB3016, VII International Conference on AIDS, Amsterdam 1992.
64. Squires K, Sacks H, Sledz S et al. Findings from a Phase I Study of Stavudine (d4T). Abstract PoB3030, VIII International Conference on AIDS, Amsterdam 1992.
65. Knupp CA, Shyu WC, Dolin R et al. Pharmacokinetics of didanosine in patients with acquired immunodeficiency syndrome or acquired immunodeficiency syndrome-related complex. *Clin Pharm Ther* 1991; 49: 523-525.
66. Groopman JE, Molina JM. Nucleoside therapy for HIV infection - some answers, many questions. *N Engl J Med* 1992; 327: 639-41.
67. Cooley TP, Kunches LM, Saunders CA et al. Treatment of AIDS and AIDS-related Complex with 2',3'-dideoxyinosine given once daily. *Rev of Inf Dis* 1990; 12(suppl 5): S552-S560.
68. Focus on Didanosine, *Drugs* 1992; 44(1): 108 (tabela).
69. Connolly KJ, Allan JD, Fitch H et al. Phase I study of 2',3'-dideoxyinosine administered orally twice daily in patients with AIDS or AIDS-related complex and hematological intolerance to zidovudine. *Am J Med* 1991; 91: 471-478.
70. Smaldone L, Beltangady M, Lagakos S et al. The relative safety of didanosine and zidovudine in the ACTG 116B/117 - A randomized double-blind trial. Abstract PoB3007 VII International conference on AIDS, Amsterdam 1992.
71. McLeod G, Mayers D, McCutchan F et al. Dideoxynucleoside resistance patterns in clinical isolates of HIV-1. Abstract ThA 1569, VII International conference on AIDS, Amsterdam 1992.
72. Kozal MJ, Merigan TC. Therapy of HIV-1 Infection, *Curr Opin Inf Dis* 1994; 7: 72-81.
73. Merigan TC, Skowron G, Bozzette SA et al. Circulating p24 antigen levels and responses to dideoxycytidine in human immunodeficiency virus (HIV) infections. A phase I/II study. *Ann Int Med* 1989; 110: 189-194.
74. Merigna TC, Skowron G. ddC study group of the AIDS Clinical Trials Group of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. Safety and tolerance of dideoxycytidine as a single agent. Results of early-phase studies in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) or advanced AIDS-related complex. *Am J Int Med* 1990; 88(suppl 5B): S11-S15.
75. Roland T, Katlama C, Berlureau P et al. Long-Term Follow-up of Patients Treated with Lamivudine (3TC) for Asymptomatic or Mildly Symptomatic HIV Infection; resumo P263 - 4th European Conference on Clinical Aspects and Treatment of HIV Infection, Milão - Março 94.
76. Van Leeuwen R et al. The Safety and Pharmacokinetics of a Reverse Transcriptase Inhibitor, 3TC, in Patients with HIV-1 Infection: a Phase I Study. *AIDS* 1992; 6: 1471-1476.
77. Sommadossi JP. Nucleoside analogs: similarities and differences. *Clin Infec Dis* 1993; 16(sup 1): S7-S15.
78. De Jong M, Vella S, Cooper D et al. Nevirapine Monotherapy in Nucleoside Naive p24 Antigen Positive Patients; resumo P270 - 4th European Conference on Clinical Aspects and Treatment of HIV Infection, Milão - Março 94.
79. Koup RA, Brewster F, Grob P et al. Nevirapine synergistically inhibits HIV-1 replication in combination with zidovudine, interferon or CD4 immunoadhesins. *AIDS* 1993; 7: 1181-1184.
80. Staszewky S. personal communication AIDS and Medication, 3rd European Meeting on Trials, Drugs and Treatment, Berlin 1993.
81. Staszewky S, Vandercam B, de Vuyst H et al. Evaluation of the Efficacy and Tolerance of R 18 839, R 89439 (Loviride) and Placebo in Patients Infected with HIV-1. An Interim Analysis; resumo O41 - 4th European Conference on Clinical Aspects and Treatment of HIV Infection, Milão - Março 94.
82. De Brander M, Staszewsky S, Roels V et al. Double-Blind evaluation of the Effects of R 18839, R 89439 and Placebo on immunological Parameters in Asymptomatic HIV Seropositive Subjects; resumo P266 - 4th European Conference on Clinical Aspects and Treatment of HIV Infection, Milão - Março 94.
83. Foscarnet Therapy in persons with AIDS: Clinical Research and Management Considerations; *J of AIDS*, 1992; 5: suppl 1.
84. Focus on foscarnet. *Drugs* 1991; 41(1): 108 -115.