

## TERAPIA ANTIRETROVIRALE DELL'INFEZIONE DA HIV

Stefano Vella, Marco Floridia

---

*Laboratorio di Virologia - Reparto Infezioni da Retrovirus - Istituto Superiore di Sanità*

### INTRODUZIONE

La Sindrome da Immunodeficienza Acquisita (AIDS) rappresenta la fase più avanzata dell'infezione da HIV, retrovirus umano con attività citopatica e lesiva per cellule che esprimono il recettore CD4, quali i linfociti T-Helper e altri tipi cellulari, fra cui alcune cellule del sistema nervoso. Questo tropismo cellulare è responsabile sia dello stato di immunodeficienza caratteristico dell'AIDS, conseguente alla progressiva riduzione dei linfociti CD4+, sia delle diverse e gravi manifestazioni neurologiche, dovute alla replicazione virale nelle cellule del SNC.

La caratteristica persistenza dell'infezione da HIV è direttamente collegata con diversi fattori, fra cui la capacità di questo virus di integrarsi a livello del DNA delle cellule infettate. Si riteneva fino a poco tempo fa che il virus, una volta raggiunto lo stadio di integrazione (che probabilmente avviene in tempi estremamente brevi dopo l'infezione), permanesse a lungo silente all'interno delle cellule infette, al riparo, tra l'altro, dall'azione del sistema immunitario ancora integro. La recente messa a punto di metodiche di titolazione della viremia plasmatica ha invece evidenziato che il virus presenta una discreta attività replicativa fin dalle fasi precoci dell'infezione. I meccanismi della lenta ma apparentemente inevitabile progressione dell'infezione da HIV verso la fase sintomatica (8-10 anni in media) non sono ancora del tutto chiariti, ma sembra possibile che altre infezioni virali e altri fattori ancora ignoti possano concorrere a questo processo. Le complesse caratteristiche del virus e il polimorfismo delle patologie opportunistiche e neoplastiche associate all'infezione da HIV rendono conto dell'estrema difficoltà di mettere a punto terapie efficaci e sicure. Malgrado ciò, e malgrado che probabilmente nessun farmaco sarà mai in grado di eliminare il virus integrato dalle cellule infette, la terapia dell'infezione da HIV ha fatto recentemente registrare notevoli progressi, per la messa a punto *in vitro*, e/o le avanzate sperimentazioni *in vivo* di numerosi agenti che sembrano

## *Terapia antiretrovirale dell'infezione da HIV*

in grado di arrestare o ridurre la replicazione virale e di contrastare o curare le patologie opportunistiche ad esso associate.

Sembra quindi concretamente raggiungibile, in un futuro non più remotissimo, l'obiettivo prioritario della terapia di questa infezione, quello cioè di sviluppare combinazioni farmacologiche, possibilmente dotate di minima tossicità a lungo termine, che rendano questa infezione una patologia cronica relativamente stabile e trattabile, dotata di minima morbidità e comunque non grandemente influente sull'aspettativa di vita degli individui infetti.

## **ORIENTAMENTI ATTUALI**

Gli obiettivi prioritari nel settore della terapia antiretrovirale dell'infezione da HIV sono sostanzialmente i seguenti:

- ottimizzazione della terapia antiretrovirale attualmente disponibile (ad esempio in termini di dosaggio e di scelta del momento in cui iniziare il trattamento).
- sviluppo e rapida valutazione clinica dei nuovi farmaci ad attività anti-HIV.

Per raggiungere questi obiettivi, i problemi di ordine generale con i quali dovremo confrontarci sono:

1. Caratteristiche dell'HIV
2. Dosaggi dei farmaci
3. Tossicità
4. Momento di inizio della terapia
5. Terapia combinata
6. Resistenza virale
7. Problematiche proprie delle ricerche cliniche.

### **1. Caratteristiche dell'HIV**

Le difficoltà della terapia antiretrovirale derivano, tra l'altro, da una serie di fattori propri del virus HIV, in particolare:

- Capacità del virus di integrarsi nel genoma della cellula ospite: al punto attuale delle conoscenze, è difficile pensare di poter eradicare il virus HIV dall'organismo infetto ma forse non è impensabile la possibilità di inibirne quasi completamente la replicazione.
- Eterogeneità delle cellule bersaglio del virus: necessità per ogni farmaco impiegato di poter raggiungere facilmente organi e sistemi diversi, tra cui il SNC.
- Facile emergenza di ceppi resistenti ai diversi farmaci.

## 2. Dosaggi dei farmaci

E' spesso più rilevante l'emivita e la concentrazione *intracellulare* dei diversi farmaci impiegati, rispetto a quella plasmatica. E' questo uno dei motivi che ha portato a somministrare per lungo tempo dosaggi eccessivi di AZT, prima di poter dimostrare che dosaggi inferiori potevano avere una pari efficacia con un'incidenza minore di effetti collaterali.

## 3. Tossicità

- Con l'anticipazione del momento in cui sembra opportuno iniziare la terapia antiretrovirale nel corso della storia naturale dell'infezione, bisognerà tenere in debito conto anche la tossicità cronica dei diversi farmaci.
- La tossicità dei diversi farmaci antivirali può variare con lo stadio clinico del paziente.
- La tossicità di questi farmaci dipende sia dalla dose giornaliera che dalla dose cumulativa assunta dal paziente.

## 4. Momento di inizio terapia

Poichè è oggi evidente che l'HIV si replica attivamente anche durante la fase asintomatica dell'infezione, con probabile danno "precocemente" a carico del SNC e dei precursori linfocitari, la terapia antiretrovirale dovrà in futuro essere iniziata il più precocemente possibile, tenendo però in opportuna considerazione anche la possibile emergenza di ceppi resistenti e la tossicità a lungo termine dei farmaci utilizzati. Un gruppo di studiosi a livello internazionale (Bari, Consensus 1993) ha definito che l'inizio della terapia con zidovudina, farmaco di prima scelta, deve iniziare in pazienti sintomatici o asintomatici che presentino un livello di CD4+ inferiore a  $250/\text{mm}^3$  anche se si è d'accordo nel considerare il livello di CD4+ inferiore a  $500/\text{mm}^3$  come un segnale di progressione della malattia indicativo, ma di per sé non sufficiente.

L'inizio della terapia può essere suggerito quando il livello di CD4+ è inferiore a  $500/\text{mm}^3$  se sono presenti altri marcatori di progressione quali il rilevamento di una diminuzione dei livelli di CD4+ maggiore del 30% dai livelli di partenza in 6 mesi oppure una documentata e persistente antigenemia p24 (inclusa la p24 dissociata con trattamento acido) verificata almeno due volte in un mese.

A conferma di ciò in un recente numero della rivista Nature sono stati pubblicati ri-

sultati che mostrano come la latenza clinica dell'infezione da HIV non corrisponda affatto alla latenza virologica. L'analisi contemporanea del sistema linfatico centrale e del sangue periferico di pazienti con infezione da HIV asintomatica ha mostrato la presenza di attiva replicazione virale a livello linfonodale anche quando nel sangue periferico non siano rilevabili particelle virali. Quindi a detta degli autori della ricerca la terapia va iniziata il più precocemente possibile, così come avviene per la maggioranza delle malattie infettive dell'uomo.

## **5. Terapia combinata**

Nuove possibilità sono chiaramente emerse utilizzando, in associazione o in sequenza, farmaci antiretrovirali diversi, nell'ottica di un approccio 'polichemioterapico' alla terapia dell'infezione da HIV analogo a quello utilizzato per altre gravi malattie infettive (vedi TBC) o per le malattie neoplastiche, si ritiene possibile:

- ottenere una migliore inibizione della replicazione virale;
- contrastare la descritta perdita di efficacia nel tempo della monoterapia (che può forse essere in relazione all'emergenza di ceppi di HIV resistenti),
- ridurre l'incidenza e la gravità dei fenomeni collaterali, naturalmente a condizione che i farmaci impiegati siano caratterizzati da diversi 'pattern' di tossicità.

D'altra parte, sempre in tema di terapia combinata, bisognerà considerare la possibilità di tossicità additive e, comunque, i problemi derivanti da una ridotta 'compliance' del paziente di fronte a terapie complesse.

## **6. Resistenza virale**

La capacità del virus HIV di andare incontro a mutazioni successive, che portano alla emergenza di ceppi resistenti ai diversi farmaci finora sperimentati, rappresenta un problema che, al di là dell'ovvio significato clinico, comprende anche una serie di elementi aggiuntivi di riflessione, come la possibilità, recentemente dimostrata, che vengano trasmessi, da un paziente in terapia ad un individuo suscettibile, ceppi di HIV già in partenza resistenti ai farmaci di più largo impiego. Di particolare rilievo è anche la recente identificazione di ceppi virali che differiscono per patogenicità e virulenza (ceppi SI, differenziabili in vitro dall'accresciuta capacità replicativa e dalla capacità di indurre sincizi, rispetto a ceppi apparentemente meno virulenti, NSI). L'esistenza di questi ceppi potrebbe in parte spiegare la differente evolutività della malattia e, forse, la diversa risposta al trattamento antiretrovirale.

## 7. Problematiche proprie delle ricerche cliniche su farmaci anti-HIV

La prossima disponibilità di nuovi farmaci anti-HIV ed i problemi già incontrati con i farmaci oggi disponibili, fanno delineare complesse problematiche tecnico-scientifiche connesse con il disegno di futuri studi sperimentali e, in particolare, la necessità di:

- disegnare gli studi su basi realistiche di pratica clinica;
- utilizzare come controlli terapie standard ben sperimentate;
- utilizzare criteri semplificati di inclusione ed esclusione dei pazienti;
- prevedere le necessarie terapie concomitanti per le infezioni opportunistiche;
- tenere presente che i risultati ottenuti in un certo stadio dell'infezione o della malattia non sono sempre trasferibili ad altri stadi (la tollerabilità dei farmaci stessi diminuisce nelle fasi avanzate, anche a causa dell'uso intensivo di farmaci concomitanti; i livelli di replicazione virale e la velocità di emergenza dei ceppi resistenti sono diversi; l'affidabilità dei marker laboratoristici varia con lo stadio clinico);
- utilizzare end-point molto chiari e affidabili. A questo proposito, bisogna rilevare che è sempre più difficile continuare ad utilizzare, anche per motivi etici, end-point clinici (come la sopravvivenza o la progressione della malattia, che richiedono tempi molto lunghi - anni - di osservazione, soprattutto oggi che non è più eticamente accettabile l'uso del placebo nei pazienti sintomatici e che sempre più i farmaci saranno studiati in pazienti in fasi iniziali di malattia), mentre i cosiddetti 'surrogate markers' oggi disponibili (livelli di linfociti CD4+ e la presenza o la scomparsa dell'antigenemia P 24, che risultano essere indicatori in genere transitori e al massimo indicatori iniziali di efficacia antivirale, ma non possono essere ancora essere utilizzati da soli per la valutazione finale della terapia) non sembrano abbastanza attendibili per la valutazione sperimentale dei nuovi farmaci. Un notevole sforzo della ricerca farmacologica è oggi effettivamente diretto verso la messa a punto e la standardizzazione di nuovi ed affidabili 'marker virologici', come la viremia plasmatica e la PCR (Polymerase Chain Reaction) semiquantitativa, che permettano l'acquisizione rapida di elementi di attività ed efficacia antivirale dei nuovi farmaci. Infatti questi nuovi surrogate markers hanno le seguenti specificità:
  - essere presente nella stragrande maggioranza dei pazienti;
  - modificarsi tempestivamente con l'inizio della terapia antivirale;
  - essere in grado di predire l'evoluzione clinica sia dei soggetti che rispondano positivamente sia dei soggetti che rispondano negativamente nei confronti del marker stesso.

Questi ultimi mezzi laboratoristici sono di complessa esecuzione e hanno problemi di riproducibilità. Da ciò deriva la necessità che i futuri studi clinici possano disporre di un supporto laboratoristico di elevatissima qualità.

## *Terapia antiretrovirale dell'infezione da HIV*

Vista la probabile notevole quantità di sostanze antivirali che in un prossimo futuro saranno disponibili, è evidente come le delicate sperimentazioni di questi farmaci debbano essere condotte in modo coordinato a livello internazionale, poichè sarà indispensabile:

- aumentare il numero di pazienti studiati in un singolo studio, cosa possibile solo attraverso studi collaborativi internazionali, per tentare di arrivare più velocemente agli end-points clinici;
- non duplicare studi già in corso, ma anzi tentare di dare risposte complementari sullo stesso farmaco.

## **FARMACI ANTIRETROVIRALI**

### **Zidovudina (AZT)**

La terapia antiretrovirale dell'infezione da HIV rimane ancora oggi fondata sulla messa a punto di strategie terapeutiche che ritardino la progressione della malattia nei pazienti infetti e migliorino la situazione clinica ed immunologica, oltre che la qualità della vita e la sopravvivenza, dei pazienti con malattia conclamata.

Il ruolo di maggiore importanza è tuttora svolto da una serie di chemioterapici antivirali appartenenti alla categoria degli analoghi nucleosidici.

Il più largamente sperimentato e utilizzato di tali composti è la zidovudina (ZDV o AZT), che fu il primo preparato antiretrovirale ad essere impiegato nella terapia dell'AIDS e che rappresenta tuttora, in numerosi paesi, l'unico farmaco ufficialmente registrato per:

- il trattamento monoterapico di prima scelta nei pazienti sintomatici;
- la terapia dell'infezione da HIV nei soggetti asintomatici con bassi livelli di linfociti CD4+ (< a 250 o nei casi citati in precedenza).

La zidovudina appartiene alla classe di composti, chiamati analoghi nucleosidici, che sono potenti inibitori *in vitro* della replicazione dell'HIV, attraverso l'inibizione della trascrittasi inversa e il blocco della sintesi del DNA sullo stampo di RNA virale, impedendo quindi l'integrazione del virus nel genoma della cellula ospite.

La selettività dell'azione antiretrovirale è legata al fatto che le DNA-polimerasi dei mammiferi, contrariamente alla trascrittasi inversa virale, sono relativamente resistenti all'effetto di questi farmaci.

Tra tutte le sostanze che hanno mostrato attività anti-HIV *in vitro*, l'AZT è stata la prima a raggiungere il livello della sperimentazione clinica allargata ed è l'unico farmaco attualmente registrato in moltissimi paesi del mondo per la terapia dell'infezione da HIV.

L'attività in vitro dell'AZT è stata dimostrata nel febbraio 1985 nei laboratori del National Cancer Institute degli Stati Uniti. Nel luglio dello stesso anno, il farmaco è stato per la prima volta sperimentato in vivo e, successivamente, nel febbraio 1986, è iniziato uno studio multicentrico dal National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID). Questo studio è stato interrotto dopo 7 mesi per l'evidente differenza di evoluzione clinica tra i due gruppi di pazienti, in termini soprattutto di sopravvivenza, che ha fatto ritenere non etica la continuazione di uno studio che prevedeva l'uso del placebo. I risultati di questo studio hanno condotto alla registrazione in tempi brevissimi della zidovudina da parte della Food and Drug Administration (FDA) degli Stati Uniti (marzo 1987) e successivamente, in molti paesi del mondo (Italia: luglio 1987) per l'uso clinico in pazienti con AIDS e ARC avanzato.

Durante gli anni di uso allargato dell'AZT, e malgrado la mancanza di ulteriori studi controllati, la relativa efficacia dell'AZT è stata in larga misura confermata, soprattutto in termini di aumento della sopravvivenza (passata dal 50% ad un anno dalla diagnosi, nei soggetti non trattati, a circa l'80% nei soggetti trattati; dal 20% al 50%, rispettivamente, a 2 anni), anche se a questo aumento hanno largamente contribuito i progressi nella cura e nella profilassi delle malattie opportunistiche. Sono stati confermati i benefici in termini di qualità della vita e di riduzione dell'incidenza di infezioni opportunistiche, oltre all'efficacia nei confronti dell'encefalopatia da HIV.

Parallelamente è apparso evidente l'effetto mielosoppressivo dell'AZT, soprattutto agli elevati dosaggi (oggi comunque vengono sempre più usati i bassi dosaggi), con una elevata incidenza di anemizzazioni (circa il 40% dei soggetti trattati) e la comparsa, più rara ma comunque significativa, di altre manifestazioni tossiche (leucopenia, epatotossicità, miopatia ecc.) e di intolleranza gastrointestinale. In linea generale, è comunque evidente che il farmaco risulta più tossico e meno tollerato in pazienti in condizioni generali compromesse e in fasi più avanzate di malattia.

Inoltre, è stato dimostrato che, soprattutto nei pazienti in fase avanzata, dopo circa sei mesi di terapia cominciano a fare la loro comparsa ceppi di HIV dotati di un grado più o meno elevato di resistenza al farmaco.

Studi portati avanti in questi anni hanno confermato la pari efficacia di dosi ridotte del farmaco e l'opportunità di iniziare il trattamento prima di quanto si facesse in passato. Ciò è dovuto anche a motivazioni di carattere virologico ed immunologico: come si è già detto, è stato recentemente dimostrato, con la messa a punto di metodiche di titolazione della viremia plasmatica, che una attiva replicazione di HIV avviene anche in fase di infezione asintomatica e che l'HIV non si trova mai in completa latenza biologica, al punto che si tende oggi, ad usare il termine di malattia da HIV per definire tutto il corso dell'infezione, compresa la fase asintomatica.

Studi recenti hanno mostrato l'efficacia della terapia precoce con AZT nei confronti

della progressione della malattia, ma non in termini di sopravvivenza dei pazienti. Un altro studio recente ha mostrato che la terapia precoce a bassi dosaggi dà un beneficio al paziente anche in termini di sopravvivenza. Vi sono anche studi che suggeriscono l'efficacia della terapia con AZT anche per pazienti asintomatici con meno di 750 CD4+, mentre i risultati dello studio Concorde (studio anglo-francese sull'efficacia dell'AZT nei pazienti asintomatici con CD4+ inferiori a 500 indicano l'assenza di benefici clinici a lungo termine per la monoterapia "immediata" con AZT). Occorre tenere presente che continuano a non essere noti gli eventuali effetti tossici a lungo termine dell'AZT (trattando gli asintomatici bisogna prevedere anni di terapia continuativa) ed i problemi derivanti in futuro a questi stessi pazienti dalla possibile emergenza di ceppi di HIV resistenti all'AZT. Resta comunque documentato il migliore andamento delle curve dei linfociti CD4+ nel gruppo di soggetti trattati. A causa dei risultati degli studi sopra citati, nella fase asintomatica dell'infezione da HIV l'AZT è oggi "offerta".

Questo problema oggi è in parte superato anche dalla presenza di nuovi farmaci antivirali in grado di contrastare i ceppi resistenti all'AZT.

Risulta oggi comunque evidente che la zidovudina andrebbe somministrata, nel corso dell'infezione, rispetto a quanto si riteneva in passato, a dosaggi notevolmente più bassi (500 mg/die), anche per il trattamento di pazienti in fase avanzata di malattia.

Va segnalato infine il riscontro di elevata occorrenza di linfomi non-Hodgkin in un gruppo di pazienti con AIDS in terapia prolungata con ZDV (14,5% dopo circa due anni). Questo fenomeno, che sembra senz'altro dovuto non ad un effetto carcinogenetico dell'AZT (che pure, ha dimostrato di possedere questa proprietà in studi condotti sull'animale, inducendo però soltanto tumori genitali negli animali di sesso femminile), bensì all'aumento della sopravvivenza dei pazienti stessi, che ha permesso l'estrinsecazione clinica di una patologia tumorale probabilmente correlata con l'immunodepressione e lo stato di attivazione B-linfocitaria.

Bisogna anche citare che sono in corso di valutazione numerosi studi sull'efficacia dell'AZT in pazienti pediatrici e che studi sulla somministrazione di zidovudina a donne HIV+ in gravidanza (ACTG 076 hanno dimostrato la possibilità di ridurre con l'uso di AZT la percentuale di trasmissione materno-fetale dell'infezione da HIV.)

L'indicazione clinica attuale della zidovudina ne prevede l'impiego di prima scelta per i pazienti HIV+ sintomatici (AIDS e ARC), e per i pazienti asintomatici con bassi livelli di linfociti CD4+. Riguardo a questi ultimi soggetti l'impiego dell'AZT riguarda in particolare coloro che mostrino un progressivo e rapido decremento dei valori assoluti di linfociti CD4+.

Studi clinici controllati hanno dimostrato che dosaggi iniziali pari a 500/mg die sono meglio tollerati e di pari efficacia rispetto agli alti dosaggi utilizzati nelle prime sperimentazioni, sia per i pazienti asintomatici che per i pazienti sintomatici. Alcune condi-



zioni cliniche come l'encefalopatia da HIV possono tuttavia richiedere dosaggi superiori (600-800/mgdie).

La terapia con AZT deve essere iniziata con cautela in pazienti anemici o neutropenici, in pazienti con compromissione epatica e renale, in pazienti che assumano farmaci mielotossici e citotossici, mentre è senz'altro controindicata in pazienti con Hb inferiore a 9 g/dl (8 g per le donne) o con marcata neutropenia ( $<1.10/L$ ).

La terapia dovrà essere periodicamente monitorizzata (ogni due settimane per i primi due mesi di trattamento e successivamente ogni mese), per rilevare tempestivamente eventuali segni di tossicità: i controlli dovranno sempre comprendere un'accurata valutazione della crasi ematica e della funzionalità renale ed epatica, nonché gli esami clinici e strumentali atti a svelare l'insorgenza di effetti collaterali rari ma possibili nella terapia a lungo termine (come ad esempio la miopatia).

A questo proposito si veda la scala OMS degli effetti collaterali e tossici, che dovrebbero guidare le riduzioni di dosaggio e le sospensioni (Tab.1).

Due grossi studi multicentrici negli USA (ACTG 019 e 016) hanno documentato che la zidovudina somministrata a pazienti asintomatici o lievemente sintomatici con CD4+ tra 200 e 500 mm<sup>3</sup> riduce la progressione verso l'ARC e l'AIDS. Altro studio condotto in Australia e in Europa su soggetti con 400-700 CD4+ ha dimostrato una differenza nella progressione clinico-immunologica rispetto al placebo.

Oltre all'AZT, è oggi possibile l'uso alternativo o associato di altri farmaci, sempre appartenenti alla categoria degli analoghi nucleosidici, i più studiati dei quali sono la didanosina (o didanosina o ddI) e la didessossicitidina (o DDC).

A tal proposito un recente studio (ACTG 116B/117) ha documentato, in pazienti con infezione asintomatica o ARC e basso livello di CD4+, già in trattamento con zidovudina da > 4 mesi, che il cambio di terapia verso la didanosina è associato ad un rallentamento della progressione della malattia rispetto ai pazienti che proseguono il trattamento con zidovudina.

### **Dideossi-inosina (didanosina - ddI)**

La didanosina, prodotto di deaminazione della dideossiadenosina, è un altro analogo nucleosidico che possiede un alto grado di attività antivirale con una tossicità cellulare apparentemente minore di quella della ZDV. Una volta penetrata nelle cellule, la ddI viene convertita nelle forme mono-, di- e trifosfato della ddA: sembra appunto che l'effetto antiretrovirale sia esercitato dalla ddA trifosfato, che funge da substrato ed inibitore della trascrittasi inversa dell'HIV. L'emivita intracellulare della ddA-trifosfato è superiore a 12 ore, per cui gli effetti antivirali della ddI potrebbero essere ottenuti anche con una frequenza ridotta di somministrazione del farmaco. L'attività antivirale in vivo della ddI è stata dimostrata in via preliminare da studi clinici di fase I, che hanno coinvolto oltre

**Tabella 1: Scala di graduazione degli effetti collaterali degli antiretrovirali**

<p>Tossicità di grado 1: stretto monitoraggio del paziente senza modifica del dosaggio.  Tossicità di grado 2: riduzione del dosaggio (metà dose giornaliera)  Tossicità di grado 3: sospensione temporanea del trattamento fino a scomparsa dei sintomi/segni, poi la terapia potrà essere ripresa a dose ridotta e sotto stretto controllo  Tossicità di grado 4: interruzione definitiva del trattamento.</p> <p>(ricorrenza di tossicità di grado 2-3 dopo riduzione/sospensione: interruzione definitiva del trattamento)</p>					
GRADO	0 Nullo	1 Lieve	2 Moderata	3 Severa	4 pericolosa per la vita
<b>EMATOLOGIA</b>					
Emoglobina (g/dl)	>10,5	9,5-10,5	8,0-9,4	6,5-7,9	<6,5
Leucocitopenia (10 <sup>9</sup> /l)	>4,0	3,0-3,9	2,0-2,9	1,0-1,9	<1,0
Neutrofili (10 <sup>9</sup> /l)	>1,5	1,0-1,5	0,75-0,99	0,5-0,74	<0,5
Piastrinopenia o petecchie	>100	75-99	50-74	20-49	<20
<b>BIOCHIMICI EPATICI/PANCREATICI</b>					
Bilirubina	<1,25x N	1,26-2,5 x N	2,6-5,0 x N	5,1-10 x N	>10 x N
AST/SGOT	<1,25x N	1,26-2,5 x N	2,6-5,0 x N	5,1-10 x N	>10 x N
ALT/SGPT	<1,25x N	1,26-2,5 x N	2,6-5,0 x N	5,1-10 x N	>10 x N
ALP	<1,25x N	1,26-2,5 x N	2,6-5,0 x N	5,1-10 x N	>10 x N
Amilasi	<1,0 x N	1,0 - 1,5 x N	1,6-2,0 x N	2,1-5,0 x N	> 05 x N
<b>BIOCHIMICI: RENALI</b>					
Creatininemia	<1,25x N	1,26-2,0 x N	2,1-3,0 x N	3,1-6 x N	> 6 x N o dialisi
Proteinuria	0 - 0,25	0,25 - 1	1,1 - 2,0	2,1 - 3,5	> 3,5
Acido urico	<1,25 x N	1,26-2,0 x N	2,1- 5,0 x N	5,1-10 x N	> 10 x N
<b>BIOCHIMICI: VARI</b>					
Potassio	> 0,69 x N	0,59-0,68 x N	0,49-0,58 x N	0,39-0,48 x N	< 0,39 x N
Calcio *	> 0,82 x N	0,76-0,81 x N	0,69-0,75 x N	0,60-0,68 x N	< 0,60 x N
Magnesio	> 0,70	0,60-0,70	0,45-0,59	0,30-0,44	< 0,30
Sodio	> 0,93 x N	0,89-0,92 x N	0,84-0,88 x N	0,79-0,83	< 0,79 x N
Trigliceridi	< 1,25 x N	1,26-2,4 x N	2,5-4,7 x N	> 4,7 x N	

N = limite di normalità  
\* corretto per albumina

250 pazienti. I pazienti trattati, oltre ad una bassa occorrenza di effetti collaterali hanno mostrato aumento del numero dei linfociti CD4+, del rapporto CD4+/CD8+, dei linfociti totali e riduzione dei livelli dell'antigene p24, associati ad un miglioramento di alcuni parametri clinici (riduzione dell'astenia, aumento dell'appetito e incremento di peso).

Gli studi fin qui eseguiti suggeriscono che dosaggi superiori ai 10-12 mg/Kg/die sono più frequentemente associati all'insorgenza di effetti tossici, mentre dosaggi inferiori sono apparsi ben tollerati anche per lunghi periodi. E' comunque evidente che la dose minima efficace è lontano dall'essere stata identificata.

I principali effetti tossici evidenziati negli studi di fase I e durante lo studio aperto, sono rappresentati da neuropatie periferiche, associate con anomalie significative della conduzione nervosa, regredite dopo alcune settimane dall'interruzione della ddI, e, in genere, correlate con una dose cumulativa somministrata superiore a 1,5-2 g/kg. Sono stati anche riportati aumento dell'amilasemia e insorgenza di pancreatite (incidenza apparente della pancreatite: 2-3% circa dei pazienti trattati) con decorso, in alcuni casi, anche fatale. Si sono verificati inoltre aumenti dei livelli di acido urico (da attribuire presumibilmente al catabolismo dei nucleosidi), ipopotassiemia, ipocalcemia, ipomagnesemia. Occasionalmente, sono comparsi rash cutanei, aumento degli enzimi epatici, ipertrigliceridemia, diminuzione delle piastrine e dei neutrofili, crisi convulsive. Questi riscontri non erano sempre correlati in maniera chiara al dosaggio o al farmaco.

Le principali novità riguardanti questo farmaco sono la sua registrazione per i pazienti con intolleranza all'AZT; sono stati inoltre isolati ceppi di HIV resistenti alla ddI. Ceppi resistenti all'AZT sono ancora sensibili alla ddI.

Dati preliminari di studi USA mostrano una certa efficacia clinica della ddI in pazienti che abbiano già ricevuto terapia con AZT per almeno 48 settimane (ACTG 116B e 117).

La tollerabilità del farmaco è migliore di quanto descritto in precedenza per i pazienti che inizino il trattamento con ddI in buone condizioni generali: incidenza di pancreatiti, peraltro lievi, 2% (studio italiano 902). Sono in corso studi per valutare l'efficacia della terapia combinata ddI+AZT (ACTG 175; studio europeo Delta).

L'attuale indicazione registrativa della ddI è limitata a pazienti HIV+ sintomatici dimostratamente intolleranti al trattamento con AZT (ad esempio: diminuzione dell'Hb o dei granulociti neutrofili di almeno il 25% rispetto al valore iniziale; vomito o nausea intractabili o cefalea in assenza di malattie sottostanti; disturbi psicotici e segni di miopatia), o che abbiano mostrato un significativo deterioramento clinico o immunologico durante la terapia con AZT (ad esempio: infezioni opportunistiche subentranti, progressiva perdita di peso, progressiva e marcata diminuzione dei linfociti CD4).

La ddI, nella nuova formulazione in compresse, 'masticabili' o meglio dispersibili accuratamente in acqua, da assumere ogni 12 ore, a stomaco vuoto (1 ora prima o almeno 2

### *Terapia antiretrovirale dell'infezione da HIV*

ore dopo i pasti), dovrà essere somministrata con i seguenti dosaggi:

- |            |                                |
|------------|--------------------------------|
| - 35-49 Kg | dosaggio 100 mg, 2 volte al dì |
| - 50-74 Kg | dosaggio 200 mg, 2 volte al dì |
| - > 75 Kg  | dosaggio 300 mg, 2 volte al dì |

Il dosaggio ottimale potrà essere adattato al singolo paziente in relazione al tipo di patologia e in relazione alle condizioni cliniche iniziali; inoltre, potrà essere variato nel corso del trattamento in relazione alla eventuale insorgenza di effetti collaterali e tossici. Gli effetti tossici più frequentemente riportati durante la terapia con ddI riguardano la neuropatia periferica e la pancreatite, mentre il farmaco non sembra possedere tossicità midollare. Alcuni casi di pancreatite, verificatisi soprattutto durante l'uso "compassionevole" del farmaco e gli studi di fase I negli USA (in cui l'incidenza della pancreatite è risultata del 9%), sono risultati fatali. L'incidenza e la gravità della pancreatite è comunque risultata più bassa in pazienti in migliori condizioni generali e comunque in pazienti che assumevano dosaggi relativamente bassi del farmaco, simili a quelli attualmente consigliati. In ogni caso, in relazione alla possibile insorgenza di effetti collaterali, il trattamento con ddI è controindicato nei pazienti che presentano:

- amilasemia > 2 volte al limite normale
- pancreatite acuta o cronica ( in atto o pregressa)
- uricemia > 9 mg/dl
- compromissione della funzionalità epatica o renale
- neuropatia periferica ( in atto o pregressa)
- diarrea intrattabile
- gravi patologie cardiache

La terapia con ddI è inoltre sconsigliata in pazienti che presentino una storia di abuso di sostanze alcoliche e che assumano farmaci potenzialmente neurotossici o pancreatossici.

I pazienti in trattamento con ddI dovranno essere sottoposti a periodici controlli clinici ed ematochimici (ogni 15 giorni per i primi due mesi e, in seguito, ogni mese). In particolare, relativamente alle possibili tossicità pancreatiche e neurologica, oltre ovviamente al dosaggio delle amilasi pancreatiche e degli altri parametri ematochimici, le modifiche del trattamento dovrebbero essere realizzate basandosi sulla scala OMS degli effetti collaterali ( Tabella 1/bis).

Si dovrà procedere alla immediata sospensione del trattamento nel caso si presentino segni clinici e/o laboratoristici anche soltanto indicativi di possibile patologia pancreatica (elevazione delle amilasi pancreatiche e dei trigliceridi, dolori addominali, nausea vomito). Il trattamento con ddI dovrà essere sospeso fino a quando la diagnosi di pancreati-

**Tabella 1 Bis: Scala di graduazione degli effetti collaterali degli antiretrovirali**

Eventi clinici	grado 0	grado 1 lieve	grado 2 moderata	grado 3 severa	grado 4 pericolosa per la vita
<b>GASTROINTESTINALI/EPATICI/ PANCREATICI</b>					
Nausea	assente	disagio lieve	disagio moderato	disagio severo	grado severo
alimentazione	mantenuta	mantenuta	ridotta	non assunz. di cibi	introito min. di liquidi
Vomito	assente	emesi transitoria	vomito occasionale /moderato	ipotensione ortost. terapia e.v. necessaria	shock ipotensivo
Diarrea	assente	transitoria 3-4 scariche	tollerabile 5-7 scariche	intollerabile > 7 scariche	shock ipotensivo
Pancreatite	assente	dolore lieve dieta liquida tollerata	dolore moderato aliment. non toller.	dolore severo che richiede analgesici	dolore severo e/o ortostasi ipocalce- mia e ipo- volemia
<b>NEUROLOGICI</b>					
Coscienza	vigile	sonnolenza transit.	letargia e mod. confusione	disorientam. lieve deficit stupore	coma e/o convulsioni

*Nota importante:* Si ricordi che nel caso del ddl il movimento delle amilasi e dei trigliceridi o un sospetto clinico di pancreatite è d'obbligo la sospensione del farmaco (vedi testo)

te non venga esclusa in modo definitivo, poi potrà essere ripreso a dose ridotta sotto stretto controllo medico.

Per una visione d'insieme riguardante caratteristiche e indicazioni della ddI vedi il quadro riassuntivo della scheda tecnica (tab. 2).

## Dideossicitidina (ddC)

**Tabella 2 : Didanosina (ddl) - Scheda tecnica**

Nome:	dideossinosina, didanosina, ddl																
Meccanismo d'azione:	analogo nucleosidico purinico, convertita a livello intracellulare a dideossiadenosina-5'-trifosfato (ddA-TP) che ne é il metabolita attivo, in tale forma funge da substrato e da inibitore della transcriptasi inversa dell'HIV;																
Farmacocinetica:	<p>parzialmente inattivato dall'acidità gastrica; biodisponibilità del 40% dopo somministrazione orale; emivita plasmatica di 60 - 90 min; emivita intracellulare (dopo conversione a ddA-TP) &gt; di 12 ore;</p> <p>metabolismo: epatico con la via delle purine con produzione di ipoxantina, xantina, ac. urico ed allantoina;</p> <p>escrezione: renale attiva (tubulo pross.) del 55% come ddl immodificato; inattivato dalla acidità gastrica;</p>																
Dosaggio:	<p>9 - 12 mg/Kg/die</p> <table> <tr> <td>peso (Kg)</td><td>dose/die(14)</td></tr> <tr> <td>35 - 49</td><td>167 mg x 2</td></tr> <tr> <td>50 - 74</td><td>250 mg x 2</td></tr> <tr> <td>&gt;= 75</td><td>375 mg x 2</td></tr> </table> <table> <tr> <td>peso</td><td>dose/die(12-13)</td></tr> <tr> <td>35 - 49</td><td>100/125 mg x 2</td></tr> <tr> <td>50 - 74</td><td>200 mg x 2</td></tr> <tr> <td>&gt;= 75</td><td>300 mg x 2</td></tr> </table>	peso (Kg)	dose/die(14)	35 - 49	167 mg x 2	50 - 74	250 mg x 2	>= 75	375 mg x 2	peso	dose/die(12-13)	35 - 49	100/125 mg x 2	50 - 74	200 mg x 2	>= 75	300 mg x 2
peso (Kg)	dose/die(14)																
35 - 49	167 mg x 2																
50 - 74	250 mg x 2																
>= 75	375 mg x 2																
peso	dose/die(12-13)																
35 - 49	100/125 mg x 2																
50 - 74	200 mg x 2																
>= 75	300 mg x 2																
Indicazioni:	<p>Infezione da HIV in pazienti con:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Controindicazioni all'uso di AZT;</li> <li>2. Intolleranza all'AZT;</li> <li>3. Inefficacia dell'AZT;</li> </ol>																

Anche questo composto è un inibitore della trascrittasi inversa virale che possiede notevolissima azione anti-HIV in vitro e un effetto sinergistico con la zidovudina. Sia gli studi iniziali che i trials successivi hanno evidenziato una notevole attività clinica nei riguardi dell'infezione da HIV, ma anche una serie di effetti tossici, diversi da quelli della zidovudina, tra cui soprattutto la neurotossicità periferica.

Risultati preliminari di altri studi in corso suggeriscono che la ddC resta efficace anche a dosaggi molto più bassi (0,075 mg/kg/die) di quelli inizialmente usati (con una incidenza molto più bassa di neuropatie), e che un regime di terapia alternata zidovudina/ddC (ACTG 047 e 50) possiederebbe equivalente attività clinica nei riguardi dell'HIV, ma minore tossicità rispetto alle singole monoterapie.

I risultati di uno studio comparativo hanno dimostrato una minore efficacia della ddC in monoterapia, rispetto all'AZT, in termini di sopravvivenza dei pazienti e di incidenza di nuove infezioni opportunistiche (ACTG 114).

Studi preliminari hanno dimostrato la superiorità della combinazione ddC+AZT nei confronti della monoterapia, in termini di aumento dei linfociti CD4+. Sono in corso studi più estesi per la valutazione clinica di questa combinazione (ACTG 155, 175; studio europeo Delta).

## **ALTRI FARMACI ANTIRETROVIRALI IN CORSO DI SVILUPPO O SPERIMENTAZIONE**

Molte nuove sostanze ad azione anti-HIV, la maggior parte a sintesi "originale" e disegnata espressamente sul virus, sono recentemente entrate in sperimentazione pre-clinica o clinica.

Il numero notevole di queste sostanze e, per alcune di queste, l'elevato potere antivirale dimostrato *in vitro*, fa effettivamente intravedere la possibilità di poter disporre, entro un lasso di tempo relativamente breve (1-2 anni), di nuovi farmaci anti-HIV da affiancare agli analoghi nucleosidici. Tra questi vanno segnalati i seguenti:

### **a. Inibitori della transcriptasi inversa non appartenenti al gruppo degli analoghi nucleosidici:**

il loro meccanismo d'azione sul processo di retrotrascrizione è ancora poco chiaro, ma appare fortemente specifico per la trascrittasi dell'HIV 1: *in vitro*, essi si mostrano infatti privi di attività inibitoria sull'HIV-2 e su ogni altro retrovirus. Questa estrema specificità sembra purtroppo essere alla base della rapidissima selezione di ceppi resistenti di HIV, fenomeno che mette in discussione il valore terapeutico di questi agenti.

**b. Inibitori della proteasi di HIV:**

il loro meccanismo d'azione si fonda sul blocco delle reazioni enzimatiche (svolte dalla proteasi codificata dal gene *pol* dell'HIV) con le quali alcune grandi macromolecole proteiche espresse dal genoma dell'HIV come precursori vengono frazionate in proteine di dimensioni minori, funzionalmente essenziali per completare il ciclo replicativo del virus. E' stato infatti dimostrato che particelle virali la cui proteasi è enzimaticamente inattiva non sono in grado di maturare fino alla forma infettante. I composti finora messi a punto in questa categoria sono strutturalmente simili al substrato naturale della proteasi dell'HIV, che legano stabilmente, con un legame aminoacidico non idrolizzabile. Sono attualmente in sviluppo pre-clinico o clinico iniziale numerosi di questi composti ed uno di questi è stato sperimentato anche in Italia, in combinazione con l'AZT.

**c. Oligonucleotidi antisenso:**

sono brevi catene nucleotidiche complementari a sequenze del DNA provirale o dell'RNA virale che legandosi ad essi ne impediscono rispettivamente la trascrizione e la traduzione bloccando così il ciclo replicativo del virus.

Già sperimentalmente utilizzati nelle malattie neoplastiche, sono in fase iniziale di sperimentazione clinica nell'infezione da HIV.

**d. Sostanze anti-tat:**

agiscono inibendo specificamente i prodotti del gene TAT virale. A questo proposito, bisogna rilevare che i complessi meccanismi di regolazione della replicazione dell'HIV sono, da una parte, elementi importanti della patogenicità stessa del virus, ma d'altra parte costituiscono anche potenziali punti di attacco selettivo della terapia antivirale. Una sostanza anti-TAT, derivata dalle benzodiazepine, è già in sperimentazione clinica e sembra essere priva di tossicità.

In prospettiva, i progressi futuri della terapia anti-HIV saranno rilevanti proprio per la disponibilità di agenti farmacologici in grado di arrestare o ridurre la replicazione virale attraverso il blocco non soltanto della trascrizione inversa (analoghi nucleosidici) e di altri enzimi connessi con la trascrizione (inibitori delle integrasi) o l'assemblaggio del virus (inibitori delle proteasi), ma anche attraverso la modulazione dei geni regolatori virali, aprendo tra l'altro la strada ad un nuovo settore di intervento farmacologico, la farmacologia della regolazione genica, che potrebbe avere anche importanti applicazioni in settori diversi dall'infezione da HIV.



## **TERAPIE DI COMBINAZIONE**

Poichè una serie significativa di dati clinici sembra chiaramente dimostrare che i vantaggi ottenibili nel breve termine con la monoterapia possono andare perduti nel lungo termine, la ricerca clinica si sta chiaramente orientando verso la valutazione di protocolli di alternanza o associazione tra farmaci.

Il razionale della terapia include i seguenti elementi:

1. migliore inibizione della replicazione di HIV, soprattutto utilizzando farmaci che agiscano a livelli diversi del suo ciclo replicativo (sinergia d'azione antivirale).
2. sfruttamento di differenti tropismi tissutali (ad es. SNC)
3. Sfruttamento di differenti tropismi cellulari (ad es. cellule linfocitarie e compartimento monocitico-macrofagico).
4. possibile riduzione delle tossicità (soprattutto per le somministrazioni alternate di più farmaci).
5. possibile ritardo dell'emergenza di ceppi resistenti.

I protocolli di associazione riguardano, per ora, prevalentemente gli analoghi nucleosidici (in pratica AZT, ddI e ddC, anche se presto saranno disponibili altre sostanze appartenenti alla stessa famiglia, quali il d4T o il 3TC) che hanno sostanzialmente lo stesso meccanismo d'azione, ma differiscono sensibilmente per quanto concerne la tipologia degli effetti tossici ed il comportamento dei ceppi di HIV resistenti, cosicchè appare comunque giustificabile il tentativo di un loro uso combinato, in associazione o in successione.

E' evidente come più rilevanti saranno in futuro gli studi che tentino di associare analoghi nucleosidici ad altre sostanze che agiscano sulla replicazione di HIV con diverso meccanismo d'azione (inibitori delle proteasi, anti-TAT).

Tenendo presente che una corretta messa a punto di terapie combinate o associate prevederebbe anche la preliminare valutazione clinica di attività e tossicità dei singoli farmaci utilizzati, i problemi ancora aperti per quanto concerne la terapia di combinazione e associazione riguardano il tipo di combinazione farmacologica, la possibilità di tossicità additive, la compliance del paziente, i problemi legati a possibili resistenze crociate (ad esempio, ddI + ddC).

**Tabella 3a : Uso clinico della zidovudina (AZT)**

<p><b>1. Controindicazioni all'uso dell'AZT:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ipoplasia midollare HIV correlata con Hb &lt; di 8.5 g/dl, Leucociti totali &lt; 1500 cell/mmc o neutrofili &lt;500 cell/mmc;</li> <li>- Trattamento con farmaci mielotossici (es. Ganciclovir);</li> </ul>
<p><b>2. Intolleranza all'AZT (presenza di almeno 1 dei seguenti segni o sintomi)*:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- reazione allergica severa (anafilassi, reazioni cutanee, febbre);</li> <li>- intolleranza gastrointestinale severa (nausea e vomito intrattabile), altrimenti non spiegabile, presente anche se il farmaco viene assunto a stomaco pieno e con terapia antiemetica;</li> <li>- cefalea intrattabile, non rispondente agli analgesici e ricorrente anche dopo sospensione e reintroduzione del farmaco;</li> <li>- calo dell'Hb alla velocità di 2 g/mese;</li> <li>- calo di neutrofili a &lt;750 cell/mmc, con ricorrenza dell'evento dopo almeno una variazione del dosaggio;</li> <li>- psicosi acuta con ricovero e ricorrente anche dopo sospensione e reintroduzione del farmaco;</li> <li>- calo importante della forza muscolare (es. incapacità di salire le scale) associata ad innalzamento della CPK superiore a 1000 U/L, che scompare alla sospensione del farmaco e riappare alla sua reintroduzione;</li> <li>- astenia grave, tale da impedire le attività giornaliere connesse con la cura di sé, che migliora alla sospensione del farmaco e peggiora alla sua reintroduzione;</li> </ul> <p>Persistenza del segno o sintomo dopo 2 tentativi di reintroduzione del farmaco di cui il 2° a dosaggio ridotto.</p>

**Tabella 3b : Uso clinico della zidovudina (AZT)**

**3. Inefficacia dell’AZT (presenza di almeno 1 dei seguenti segni o sintomi)\*:**

- calo ponderale >5% in due mesi, senza altra causa apparente;
- Karnofsky  $\geq$  50, ma con un decremento  $\geq$  20 rispetto alla precedente determinazione (persistente in almeno due controlli a distanza di due settimane) correlati all’HIV;
- febbre inspiegabile  $\geq$  38°C da più di sette giorni;
- ricomparsa di leucoplachia linguale o candidosi orale evidente;
- comparsa di Infezioni Opportunistiche (almeno 3 episodi negli ultimi 6 mesi);
- ricomparsa di un nuovo episodio di H. Zoster multimetamerico (fino ad allora quiescente);
- comparsa di alterazioni cutanee quali psoriasi, mollusco contagioso o ricomparsa di dermatite seborroica;
- comparsa di ulcere erpetiche croniche non responsive al trattamento con acyclovir;
- deterioramento neurologico marcato (ADC, psicosi, mielite trasversa, leucoencefalopatia Multifocale Progressiva);
- calo dei CD4+ > 50 cell/mmc in sei mesi.

Tali sintomi devono comparire durante il trattamento con AZT e quest’ultimo deve durare da almeno 9-12 mesi.

## **Bibliografia**

1. AIDS Clinical Care, Vol 3, 12, 1991
2. Bach M.C.; Clinical response to dideoxyinosine in patients with HIV infection resistant to zidovudine. *N England J Med* 19; 323: 275, 1990
3. Connolly K.J., Allard J.D., et al. Phase I study of 2'3' dideoxyinosine administered orally twice daily to patients with AIDS or AIDS related complex and hematologic intolerance to Zidovudine. *Am J Med*; 91: 471-8, 1991
4. Connolly K.J., Hammer S.M. Minireview: Antiretroviral therapy: Strategies beyond single-agent reverse transcriptase inhibition. *Antimicrob. Ag. Chemother.* 36: 509-520, 1992
5. Dianzani F., Bassetti D., Carosi G., Cooper D., Hardy W., Moroni M., Portegies P., Seligmann M., Vella S. Consensus: "Linee guida sulla terapia dell'infezione da HIV". Bari 12 Novembre 1993
6. Graham N. M.H., Scott L.Z. et al. The effects on survival of early treatment of Human Immunodeficiency Virus infection. *N.Engl. J. Med.*; 1037-42, 1992
7. Hamilton J.D., Hartigan P.M., et al. A controlled trial of early versus late treatment with zidovudine in symptomatic human immunodeficiency virus infection. *N.Engl. J Med.* 326: 437-43, 1992
8. Kahn J. Clinical Issues in using DIDANOSINE (ddI). *AIDS Clinical Care*; 3: 91-96, 1991
9. Kahn J.O., Lagakos SW, et al. A controlled trial comparing continued zidovudine with didanosine in human immunodeficiency virus infection. *N Engl. J .Med.*; 327: 581-7, 1992
10. Lambert J.S., Seidlin M., et al. 2'3'-Dideoxynsine (ddI) in patients with the acquired immunodeficiency syndrome or aids-related complex. *N.Engl. J. Med.* 322 : 1333-40, 1990
11. Larder B., A.Darby G. , Richman D., HIV with reduced sensitivity to Zidovudine (AZT) Isolated during prolonged therapy. *Science.* 243: 1731-1734, 1989
12. Lipsky J.J. Zalcitabine and didanosine. *Lancet* 341: 30-32, 1993
13. Merigan T.; Treatment of AIDS with combinations of Antiretroviral agents. *Am J Med*; 90 (suppl. 4A): 8s-17s, 1991
14. Molina J.M., Groopman J.E. Bone Marrow toxicity of dideoxyinosine. *N England J. Med.*; vol. 321: 1478, 1989
15. Moore R.D., Hidalgo J., Sugland B.W., Chaisson R. Zidovudine and the natural history of the acquired immunodeficiency Syndrome. *N.Engl J. Med.* 324: 1412-16, 1991
16. Noticeboard. Didanosine and ACTG 116 A. *Lancet* 341: 109, 1993
17. Pantaleo G., Graziosi C., Demarest J.F., et al. HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. *Nature*, 362: 355-358, 1993
18. Ragni M. Combination zidovudine and Dideoxyinosine in asymptomatic HIV + patients. 8th International Conference on AIDS, Amsterdam, 1992, ABSTRACT MOB 0055
19. Richman Douglas D., Fischl M.A., Grieco M., et al. The toxicity of Azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-Related complex. *N. Engl. J. Med.*, 317: 192-7, 1987
20. Skowron G., Merigan T.C. Zidovudine (3'-azido 3'-deoxythymidine) and Dideoxycytidine (2'3'-dideoxycytidine) in the treatment of patients with acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) and Aids-related complex. *Am. J. Med.* 88 (suppl. 58), 20-235, 1990
21. Vella S., Agresti M.G., et al. La didanosina (ddI): prospettive di impiego nell'infezione da HIV. *GIAIDS*; 2: 79-83, 1991
22. Vella S., Giuliano M., Pezzotti P., et al. Survival of Zidovudine-treatment patients with AIDS compared with that of contemporary untreated patients. *JAMA* 287: 1232-1236, 1992
23. Volberding M.D., Lagakos S.W., et al. Zidovudine in asymptomatic human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med.* 322: 941-49, 1990
24. Yarchoan R., Lietzau J.A. et al. Therapy of AIDS or symptomatic HIV infection with simulta-

- neous or alternating regimens of AZT and ddI. 8th International Conference on AIDS, Amsterdam, 1992. ABSTRACT MOB OO54
25. Yarchoan R, Mitsuya H., Myers C.E. and Broder S. Clinical Pharmacology of 3'-Azido 2'3'-Dideoxythymidine (zidovudine) and related dideoxynucleoside? N. Engl. J. Med., 321: 726-38, 1989
  26. Yarchoan R., Mitsuya H. et al.; In vivo activity against HIV an favorable toxicity profile of 2'3'dideoxyinosine. Science; 245: 412-15, 1989
  27. Yarchoan R., Thomas R.V., Perno C.F., Klecker R., et al. Phase I studies of 2,3-dideoxycytidine in severe human immunodeficiency virus infection as a single agent and alternating with zidovudine (AZT). Lancet, 1: 76-81, 1988