CATALINA RIERA COSTA

**Manifestações bucais da AIDS e o perfil de mutações e de resistência do HIV
em pacientes experimentando falha terapêutica**

São Paulo

2013

CATALINA RIERA COSTA

**Manifestações bucais da AIDS e o perfil de mutações e de resistência do HIV
em pacientes experimentando falha terapêutica**

Versão Corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, para obter o título de Doutor, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Área de Concentração: Patologia Bucal

Orientadora: Profa. Dra. Karem López Ortega

São Paulo

2013

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação
Serviço de Documentação Odontológica
Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Costa, Catalina Riera.

Manifestações bucais da AIDS e o perfil de mutações e de resistência do HIV em pacientes experimentando falha terapêutica/ Catalina Riera Costa; orientador Karem López Ortega. -- São Paulo, 2013.

120 p.: il. : fig., tab.; fig. 30 cm.

Tese (Doutorado) -- Programa de Pós-Graduação em Odontologia. Área de Concentração: Patologia Bucal. -- Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Versão corrigida.

1. Manifestações bucais. 2. Síndrome de Imunodeficiência Adquirida. 3. Vírus. 4. HIV. I. Ortega, Karem López. II. Título.

Costa CR. Manifestações bucais da AIDS e o perfil de mutações e de resistência do HIV em pacientes experimentando falha terapêutica. Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Odontologia.

Aprovado em: 10/12/2013

Banca Examinadora

Prof(a). Dr(a) Karem López Ortega

Instituição: FOUSP

Julgamento

Aprovada

Prof(a). Dr(a) Marina Gallottini

Instituição FOUSP

Julgamento

Aprovada:

Prof(a). Dr(a) Marília T Martins

Instituição FOUSP

Julgamento

Aprovada:

Prof(a). Dr(a) Marcio Augusto de Oliveira

Instituição Prefeitura de Barueri

Julgamento

Aprovada

Prof(a). Dr(a) Alessandra Rodrigues Camargo

Instituição UFSC

Julgamento

Aprovada

Aos pacientes que passaram por minha vida no decorrer destes anos. Vocês me tornaram uma pessoa melhor!

Professora Esther Goldberg Birman, onde quer que você esteja... A semente que você plantou, germinou... Finalmente um desejo seu realizado!

Ao meu companheiro e cúmplice de todas as horas, Jose Florentino dos Santos Junior. Obrigada pelo amor, paciência e cuidados dedicados.

Aos meus queridos colegas “ervas daninhas” pelas trocas, amizade e esperanças compartilhadas. Para sempre em meu coração.

À minha orientadora Karem Lopez Ortega. A busca por uma parceria resultou em uma grande amizade! Obrigada!

AGRADECIMENTOS

Agradecer é correr o risco de esquecer... Por isso, cito aqui Antoine de Saint-Exupéry - “Cada um que passa em nossa vida, leva um pouco de nós mesmos, e deixa um pouco de si mesmo. Há os que levam muito, e há os deixam muito, mas não há os que não deixam nada”.

À Karem Lopez Ortega pela confiança, competência e seriedade. Minha admiração!

Aos Professores Marina G.C. Magalhães, Décio Pinto dos Santos Júnior, Fábio Daumas, Suzana Orsini, pelo acolhimento e ensinamentos. Uma equipe admirável!

Aos colegas do CRT-DST/Aids, Leda Jamli Jamal, Simone Queiroz Rocha pelo acesso ao RENAGENO e confecção do banco de dados.

À Mariza Vono Tancredi pela valiosa participação e contribuição por ocasião da qualificação da tese.

À equipe do SAME, pela receptividade e ajuda na localização dos prontuários.

Ao Paulo Roberto Teixeira, minha grande admiração e respeito por seu pioneirismo, coragem e competência nas ações preventivas, educativas e assistenciais ao longo da epidemia da AIDS.

À Maria Clara Gianna, diretora do CRT-DST/Aids, pelo apoio, incentivo e amizade.

Aos colegas Eduardo R. Lagonegro e Jose Valdez R. Madruga pelas “conversas paralelas” que tanto contribuíram.

Aos colegas, Décio, Fabiana, Odailton, Patricia Policarpo e Sonomi, pela parceria.

Às “meninas” Júlia, Juracy, Rita, Sandra, Silene, e às recém-chegadas, Rose e Clodoalda. Sem vocês, a Odontologia não seria a mesma.

‘ O que sabemos é uma gota; o que ignoramos é um oceano ’

Isaac Newton

RESUMO

Costa CR. Manifestações bucais da AIDS e o perfil de mutações e de resistência do HIV em pacientes experimentando falha terapêutica [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2013. Versão Corrigida.

As manifestações bucais da AIDS têm sido relacionadas a diversas características clínicas da infecção pelo HIV como decréscimo de células T CD4+, aumento de carga viral e falha terapêutica, entre outras. Os avanços recentes da medicina mostram que a falha terapêutica, nesses pacientes, está diretamente vinculada a mutações na transcriptase reversa (TR) e na protease (PR). O objetivo deste estudo foi descrever, em pacientes HIV+ apresentando falha terapêutica, o perfil de mutações do vírus e o perfil de resistência a antirretrovirais, e correlacioná-los as manifestações bucais da imunodeficiência. Foram acessados prontuários, laudos de genotipagem e informações de bancos de dados digitais de pacientes com AIDS, que se submeteram a genotipagem no Centro de Referência e Treinamento em Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS (CRT-DST/AIDS), entre 2003 e 2010. Os dados foram transferidos para o Epiinfo, onde foi construído um banco de dados informatizado para posterior análise estatística. O evento “lesões orais” foi escolhido como variável dependente. Calculou-se o *odds ratio* para cada variável independente, utilizando intervalo de confiança de 95%. Foram cruzados dados sobre mutações encontradas no vírus e resistência às medicações com a presença e tipo de manifestações bucais. O teste de *Bartlett* foi utilizado para testar a normalidade dos dados. Para variáveis sem distribuição normal foram aplicados os testes de *Mann-Whitney* ou *Kruskal-Wallis*. Para comparação entre frequências e proporções, foi utilizado o *Teste de Exato de Fisher* ou o *Qui quadrado*. O nível de significância foi estabelecido como 0,05 ou 5%. A análise de características sociocomportamentais e clínico laboratoriais permitiu verificar que a presença de lesões orais pode ser relacionada estatisticamente a baixas taxas de CD4 ($p < 0,05$), faixa de carga viral ($p = 0,048$) e ao uso prévio de mais de cinco esquemas antirretrovirais diferentes ($p = 0,021$). Verificou-se maior prevalência de lesões virais (75%) e bacterianas (66,7%) do que de lesões fúngicas (37,3%) apenas em pacientes que apresentavam resistência a inibidores de protease (IP) ($p = 0,02$).

Foram encontradas 146 mutações diferentes nos pacientes que apresentavam lesões orais, dentre essas, quatro (101E, 20T, 188L, 93L) apresentaram correlação negativa com a presença de lesões orais (respectivamente, $p=0,01$, $p=0,01$, $p=0,03$, $p=0,03$) e oito (215Y, 118I, 20R, 44D, 71I, 82I E 84V) apresentaram correlação positiva (respectivamente $p=0,04$, $p=0,05$, $p=0,03$, $p=0,01$, $p=0,01$, $p=0,04$, $p=0,0004$). Subsequentemente, as mutações que apresentaram correlação positiva com a presença de lesões orais foram avaliadas para verificar se sua presença estaria realmente associada a resistência aos ARVs (aos quais seriam supostamente resistentes). Foram excluídas dessa avaliação as mutações 71I e 82I, por apresentarem uma quantidade extremamente pequena de ocorrências. Todas as mutações apresentaram correlação estatística positiva para a resistência aos respectivos antirretrovirais ($p<0,05$). Em pacientes HIV+, que apresentavam falha terapêutica e manifestações bucais, foram identificadas as mutações 84V e 20R na PR e as mutações 215Y, 44D e 118I na TR e a presença dessas mutações foi associada a resistência a inibidores de protease e inibidores de transcriptase reversa nucleosídeos, respectivamente.

Palavras-chave: AIDS. HIV. HAART. Mutações do HIV. Manifestações bucais. Genotipagem.

ABSTRACT

Costa CR. Oral manifestations of AIDS and the profile of HIV mutations and resistance in patients undergoing treatment failure [thesis]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia; 2013. Revised Version.

Oral manifestation of AIDS have been associated with several clinical characteristics of HIV infection such as reduction in T CD4⁺ cells, increase in viral load and treatment failure, among others. Recent advances have shown that treatment failure in these patients is directly linked to mutations in reverse transcriptases (RT) and in proteases (PR). The objective of the present study was to describe the profile of virus mutations and of resistance to antiretroviral drugs in HIV⁺ patients in treatment failure, and to correlate mutations to the oral manifestations of the immunodeficiency. Patient charts, genotyping results and information from digital databases of AIDS patients, who underwent genotyping at the Sexually Transmissible Diseases and AIDS Training and Reference Center (CRT-DST/AIDS) between 2003 and 2010, were accessed. Data were transferred to the Epiinfo program, in which a computerized database was built for statistical analysis. The event “oral lesions” was chosen as a dependent variable. *Odds ratio* for each independent variable was calculated, using a 95% confidence interval. Data found on virus mutations and drug resistance was analyzed to check for correlation with presence and type of oral manifestations. The *Bartlett* test was used to test normality of data. *Mann-Whitney* or *Kruskal-Wallis* tests were used for variables without a normal distribution. *The Fisher Exact* or *Chi-square Tests* were used to compare frequencies and proportions. A 0.05 or 5% significance level was established. The analysis of socio-behavioral and clinical-laboratorial characteristics allowed concluding that the presence of oral lesions may be related to statistically low CD4 rates ($p < 0.05$), viral load range ($p = 0.048$) and previous use of more than five different antiretroviral regimens ($p = 0.021$). A higher prevalence of viral (75%) and bacterial (66.7%) lesions in relation to fungal lesions (37.3%) was observed only in patients who were resistant to protease inhibitors (PI) ($p = 0.02$). We found 146 different mutations in patients with oral lesions, among which, four (101E, 20T, 188L, 93L) with a negative correlation with the presence of oral lesions ($p = 0.01$, $p = 0.01$, $p = 0.03$, $p = 0.03$, respectively) and

eight (215Y, 118I, 20R, 44D, 71I, 82I E 84V) with a positive correlation ($p=0.04$, $p=0.05$, $p=0.03$, $p=0.01$, $p=0.01$, $p=0.04$, $p=0.0004$, respectively). Subsequently, mutations with a positive correlation with the presence of oral lesions were assessed to check if their presence would really be associated with resistance to ARVs (to which they supposedly would be resistant to). Mutations 71I and 82I were excluded from this assessment because they had an extremely low frequency. All mutations had a statistically positive correlation for resistance to their respective antiretroviral drugs ($p<0.05$). Mutations 84V and 20R were identified in PR, and mutations 215Y, 44D and 118I in TR of HIV+ in patients undergoing treatment failure and presenting oral manifestations. Moreover, the presence of these mutations was associated with resistance to protease inhibitors and to nucleoside reverse transcriptase inhibitors, respectively.

Keywords: AIDS. HIV. HAART. HIV mutations. Oral manifestations. Genotyping.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3TC	Lamivudina
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
ARV	Antirretrovirais
ATV	Atazanavir
ATV/R	Atazanavir Potencializado com Ritonavir
AZT	Zidovudina
CD	Cirurgião Dentista
CD4+	Linfócito TCD4+
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CELS/MM	Células por Milímetro Cúbico
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CONEP	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
CRT-DST/AIDS	Centro de Referência e Treinamento DST/AIDS
D4T	Estavudina
DDC	Zalcitabina
DDI	Didanosina
DLV	Delavirdina
DST	Doenças Sexualmente Transmissíveis
EBV	Epstein-Baar Vírus
EFZ	Efavirenz
ELIZA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EUA	Estados Unidos da América
F	Feminino
FDA	Food and Drug Administration
HAART	Highly-Active Anti Retroviral Therapy
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HSH	Homens que fazem Sexo com Homens
IC	Intervalo de Confiança
IP	Inibidor de Protease
ITRN	Inibidores da Transcriptase Reversa Análogo de Nucleosídeos

ITRNN	Inibidores da Transcriptase Reversa não Análogos de Nucleosídeos
LPV	Lopinavir
LPV/R	Lopinavir Potencializado com Ritonavir
MRG	Médico de Referência de Genotipagem
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Polimerase Chain Reaction
RNA	Ribonucleic Acid
SAME	Serviço de Arquivo Médico
SES	Secretaria do Estado da Saúde
SICLOM	Sistema de Controle Logístico de Medicamentos
SINAN-AIDS	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SISCEL	Sistema de Controle de Exames Laboratoriais
SISTEMA FAA	Ficha de Acompanhamento Ambulatorial
SK	Sarcoma de Kaposi
SUS	Sistema Único De Saúde
TARV	Tratamento Antirretroviral
UDI	Usuários de Drogas Injetáveis
WHO	World Health Organization

LISTA DE SIMBOLOS

%	porcentagem
N	Número da amostra
<	menos
>	maior

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1 - Esquemática do HIV-1
- Figura 2.2 - Organização genômica do HIV-1
- Figura 2.3 - Esquema de classificação do HIV segundo seus tipos, subtipos e sub subtipos
- Figura 5.1 - Diagrama da formação da população de estudo dos pacientes que tiveram a genotipagem realizada no CRT-DST/AIDS-DST/AIDS de 2003 a 2010 (N=1849).....
- Figura 5.2 - Pacientes que apresentaram mutações análogas da timidina - TAM1
- Figura 5.3 - Pacientes que apresentaram mutações análogas da timidina – TAM2

LISTA DE TABELAS

- Tabela 2.1 - Drogas antirretrovirais aprovadas pelo FDA (FDA, 2013; Ammaranond; Sanguansittianan, 2012)
- Tabela 2.2 - Medicamentos antirretrovirais fornecidos pelo SUS no Brasil e o ano de início da distribuição.....
- Tabela 2.3 - Mutações na TR e PR (*in vivo* e *in vitro*) que conferem resistência aos ARVs específicos. “X” significa a presença de qualquer aminoácido na inserção do códon 69. “Ins” significa inserção (Diaz, 2011)
- Tabela 2.4 - Mutações relacionados com resistência aos ARVs (ITRN, ITRNN, IP). Entre parênteses estão os códons acessórios (Johnson et al, 2013)
- Tabela 5.1 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e quem examinou, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC) ...
- Tabela 5.2 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e faixa etária, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)
- Tabela 5.3 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e cor, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC).....
- Tabela 5.4 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e categoria de exposição, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)
- Tabela 5.5 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e faixa de CD4, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)
- Tabela 5.6 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e faixa de carga viral, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)
- Tabela 5.7 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e número de esquemas ARV, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)

Tabela 5.8 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e mutação na transcriptase, <i>odds ratio</i> (OR) e intervalo de confiança (IC)
Tabela 5.9 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e mutação na protease, <i>odds ratio</i> (OR) e intervalo de confiança (IC)
Tabela 5.10 -Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e resistência a ITRN, <i>odds ratio</i> (OR) e intervalo de confiança (IC)
Tabela 5.11 -Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e resistência a ITRNN, <i>odds ratio</i> (OR) e intervalo de confiança (IC)
Tabela 5.12 -Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e resistência ao IP, <i>odds ratio</i> (OR) e intervalo de confiança (IC) ..
Tabela 5.13 -Correlação entre a presença de resistência a IPs e os tipos de manifestações orais
Tabela 5.14 -Comparação entre os tipos de lesões e a resistência a IPs
Tabela 5.15 -Número de drogas ativas em pacientes com e sem lesão oral
Tabela 5.16 -Mutações que apresentaram diferenças estatisticamente significantes segundo a presença de manifestação oral.....
Tabela 5.17 -Significância estatística entre as mutações que se apresentaram positivamente correlacionadas a presença de lesão oral e a identificação de resistência a drogas

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
2 REVISÃO DA LITERATURA	20
2.1 O vírus da imunodeficiência humana (HIV): estrutura, ciclo de Replcação viral, divisão de classificação de tipos e subtipos virais	20
2.2 O tratamento antirretroviral: drogas, grupamentos farmacológicos, esquemas terapêuticos e efeitos indesejáveis da terapia antirretroviral	26
2.3 Falha terapêutica: mutações de resistência do HIV, genotipagem, fenotipagem e consequências clínicas	37
2.4 As manifestações bucais da AIDS no contexto da doença	45
3 PROPOSIÇÃO	48
4 CASUÍSTICA-MATERIAL E MÉTODOS	49
4.1 Casuística	49
4.1.1 Desenho de Estudo	49
4.1.2 População amostral.....	49
4.1.3 Critérios de inclusão	49
4.1.4 Critérios de exclusão	50
4.2 Material e Método	50
4.2.1 Análise dos dados	52
4.2.2 Considerações éticas	53
5 RESULTADOS.....	54
5.1 Seleção da população amostral	55
5.2 Manifestações orais e dados sociocomportamentais, clínicos e laboratoriais.....	56
5.3 Manifestações orais e genotipagem: subtipos virais, mutações na TR e PR, resistência a ARVs e drogas ativas.....	63
5.4 Lesões orais e análise dos códons de mutações da TR e PR.....	69

6 DISCUSSÃO	74
7 CONCLUSÃO	83
REFERÊNCIAS.....	84
APÊNDICES	104
ANEXO.....	120

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento sobre a AIDS no mundo tem sido extensamente incrementado em decorrência de uma grande quantidade de pesquisas executadas nas mais diversas áreas.

A etiopatogenia do HIV, apesar de figurar entre os tópicos mais estudados, segue sendo investigada e novas frentes de pesquisa e conhecimento foram abertas graças aos avanços da biologia molecular.

Hoje é possível verificar que a diversidade filogenética do HIV conta com grupos, subtipos, sub subtipos e formas recombinantes.

Essa diversidade filogenética, aliada ao fato de o vírus apresentar um RNA e ter que transcrevê-lo para só então infectar uma célula hospedeira, leva ao aparecimento de diversas mutações, sendo que acontecem, em maior parte, nas principais enzimas do vírus, a protease e a transcriptase reversa. E é exatamente contra essas enzimas que se desenvolveram a maioria das drogas antirretrovirais que objetivam eliminar o vírus.

A terapia antirretroviral só passou a ser efetiva, em termos de diminuir a morbidade e mortalidade dos pacientes, quando drogas, de grupamentos farmacológicos diferentes, foram utilizadas em conjunto para o tratamento.

Entretanto, após alguns anos de utilização dessas medicações, foi possível verificar que a pressão seletiva exercida por essas drogas também levava a novas mutações no vírus, que culminam com a redução da eficiência do arsenal terapêutico disponível.

Diante deste quadro é possível prever que mesmo pacientes que se encontram sob tratamento antirretroviral e que possuem imunidade preservada ou reconstituída, podem e fatalmente vão apresentar falha terapêutica vinculada às mutações de resistência a drogas acumuladas pelo vírus.

Na atualidade, as pesquisas buscam identificar as mutações que levam a perda de eficácia da terapia e como agir para preveni-las e identificá-las o mais cedo possível.

Dentro da epidemia de AIDS no mundo, a identificação das manifestações bucais tornou-se um poderoso recurso para estadiar a infecção causada pelo HIV, prever a progressão para a AIDS e para a morte, inferir falha virológica ou diminuição da imunidade circulante e até mesmo prever falta de adesão ou falha da terapia antirretroviral.

Talvez algumas dessas manifestações bucais também possam representar a tradução clínica de mutações de resistência a drogas, ou sua identificação possa servir como um indicador precoce dessas mutações. Este tipo de questionamento abre novo campo para a pesquisa da AIDS, na odontologia.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O vírus da imunodeficiência humana (HIV): estrutura, ciclo de replicação viral, divisão de classificação de tipos e subtipos virais

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é um retrovírus humano (família Retroviridae, gênero Lentivírus) que possui 100 nm de diâmetro. Sua estrutura apresenta um envelope lipoproteico de duas camadas e um núcleo contendo o material genético do vírus (duas fitas simples de RNA) e enzimas virais, a transcriptase reversa (TR), a integrase (IN) e a protease (PR), que são envoltos pelo capsídeo viral (Figura 2.1). As proteínas gp120 e gp41 do envelope viral lipoproteico participam da adesão do vírus à célula-alvo, ligando-se ao receptor CD4 da célula hospedeira (Ray; Doms, 2006).

Figura 2.1 – Esquemática do HIV-1
(Adaptado de: <http://www.eenzyme.com/images/categories/HIV%20structure1.jpg>)

Incorporado ao envelope viral existem proteínas da célula hospedeira e 72 cópias (em média) de uma complexa proteína viral chamada *env*. Cada uma dessas 72 proteínas é composta por um conjunto de três moléculas de uma glicoproteína externa que possui 120 kilodaltons (gp120) e por três moléculas de uma glicoproteína de transmembrana com 41 kilodaltons (gp41). A gp120 liga-se à molécula CD4⁺ do hospedeiro, ocorrendo uma mudança em sua conformação e ligando-se a um dos correceptores (CCR5 ou CXCR4), permitindo que ocorram mudanças estruturais na gp41, promovendo a aproximação do vírus à célula do hospedeiro e a fusão do envelope viral com a membrana celular (Ruibal-Ares et al., 2004). Cabe lembrar que o CCR5 e o CXCR4 são receptores de quimocinas presentes nas superfícies das células hospedeiras e que viabilizam a ligação entre estas e os vírus. O CXCR4 é encontrado em linfócitos T CD4⁺ e o CCR5 em macrófagos. O HIV-1 que apresenta tropismo para CCR5 é também denominado de R5 enquanto que o que apresenta tropismo por CXCR4 é denominado de X4 (Coakley et al, 2005).

O HIV possui uma estrutura genética complexa, com seu genoma de 9,7Kb e com a estrutura comum aos retrovírus: três genes estruturais, *gag* (group antigen), *pol* (polymerase), *env* (envelop), dois regulatórios (*tat* e *rev*) e quatro acessórios (*vif*, *vpr*, *vpr* e *nef*), que têm suas sequências intercaladas aos genes principais do HIV. Nas extremidades do genoma viral encontram-se as LTR (do inglês terminações repetitivas longas) com a função de auxiliar sua integração ao DNA celular (Gojobori et al., 1990; Foccacia; Veronesi, 2007).

As proteínas estruturais codificadas pelos genes *gag* codificam as proteínas da matriz e do capsídeo viral, o *env* codifica as proteínas do envelope viral, e o gene *pol* codifica as enzimas envolvidas no ciclo de replicação viral – protease (p10), transcriptase reversa (p66/p51) e integrase (p31). O gene *env* codifica a gp160 (glicoproteína precursora) que dará origem, após sua clivagem, a gp120 e gp41. O gene *gag* produz a p55 que, ao ser clivada, origina a proteína da matriz (p17), a proteína principal do capsídeo (p24), a proteína de ligação com o ácido nucleico (p9) e a proteína rica em prolina (p6) (Greene et al., 1991).

A proteína *nef* tem a função de diminuir a expressão de CD4 e *MHC* (complexo principal de histocompatibilidade), bloquear apoptose, aumentar a

infectividade viral e alterar o estado de ativação da célula. A *vif* é um fator de infectividade, atuando, provavelmente, na maturação da proteína do envelope. As demais atuam na replicação viral e na infecção de macrófagos (*vpr*), na liberação da partícula viral (*vpu*), como um transativador da transcrição (*tat*) e como um transativador pós-transcricional, atuando no processamento, transporte e tradução dos RNAs mensageiros (*rev*) (Foccacia; Veronesi, 2007).

As proteínas virais e os elementos estruturais genômicos estão diagramados na figura 2.2.

Figura 2.2 - Organização genômica do HIV-1
(Adaptado de: <http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/MAP/landmark.html>)

Através da análise de sequências desses genes, verificou-se uma extensa variação genética do vírus, que resultou em uma classificação dos tipos e subtipos do HIV. Existem dois tipos, o HIV-1, amplamente disseminado e associado à pandemia, e o HIV-2, encontrado no oeste da África, cujo período entre a infecção e a doença é maior que o observado no tipo 1 C (Marlink et al. 1994).

O HIV-1 é predominante em todo o mundo e pode ser classificado em quatro grandes grupos (M, O, N, P), que são identificados em decorrência de apresentarem diferenças na proteína *env*. Mais de 90% das infecções pelo HIV-1 correspondem aos subtipos do grupo M (“major” ou “main”), sendo este o grupo melhor estudado. O grupo M conta com, pelo menos, nove subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J, K). Os subtipos E e I, que inicialmente foram classificados como subtipos do grupo M, possuem na realidade genomas recombinantes, de acordo com a análise e caracterização dos seus genomas completos. O grupo O (“outlier”) parece restrito à

região centro-oeste da África, o grupo N (“new” ou “non-O-non-M”) foi descoberto em Camarões em 1998 e é extremamente raro e o grupo P foi descoberto em 2009 em uma mulher camaronesa (Sucupira; Janini, 2006; Robertson et al., 2000; Simon et al., 1998; Plantier et al., 2009).

Na África subsaariana e no sudeste asiático, onde se concentram 82% dos casos de HIV entre adultos e crianças do mundo, predomina o subtipo C, justificando a maior prevalência desse subtipo na pandemia (UNAIDS, 2007).

O HIV-2 foi encontrado principalmente em indivíduos infectados na parte ocidental da África e é muito semelhante ao HIV-1, na medida em que tem o mesmo tropismo por células do sistema imunológico e provoca a doença que resulta da deficiência imunológica (Klimas et al., 2008). O HIV-2 pode ser dividido em oito subtipos de A a H (Lorete, 2005; Ibe et al., 2010).

No Brasil predomina o HIV-1 subtipo B, seguido pelo F nas regiões Sudeste, centro-oeste e nordeste, embora já tenham sido identificados pelo menos cinco subtipos diferentes (B, F, C, D e A) (Sabino, 1996; Brindeiro et al., 2003; Couto-Fernandez et al., 2005; Cavalcanti et al., 2007; Caseiro et al., 2008). Na região Sul, a prevalência do subtipo C é maior que no resto do país, podendo ultrapassar 50% dos casos (Brindeiro et al., 2003).

Além dos subtipos identificados, também é possível verificar a presença de diversas formas recombinantes que podem ser classificadas em recombinantes circulantes (CRF) e recombinantes únicas (UFR). As UFRs não demonstram ter potencial epidêmico e são nomeadas segundo os subtipos presentes na recombinação (ex. AC, AD) (Sucupira; Janini, 2006). Já as CRFs se disseminam o suficiente para estabelecer novos focos epidêmicos e são numeradas sequencialmente e segundo os subtipos associados (ex. CRF02_AG foi a segunda CRF descoberta e é resultante da recombinação dos subtipos A e G) (Robertson et al., 2000). Existem atualmente 32 formas recombinantes circulantes do HIV-1 descritas (Sucupira; Janini, 2006). As recombinantes no HIV-2 são raras, tendo sido descrita a primeira recombinante deste em vírus em 2010 (Ibe et al., 2010).

A divisão de classificação do HIV-1 pode ser expandida além dos grupos, tipos e CRFs, graças ao avanço nas tecnologias moleculares. Hoje é possível

contabilizar também pequenas diferenças dentro de um mesmo subtipo. Quando essas diferenças são tão pequenas ao ponto de não poderem ser enquadradas como um novo subtipo, identifica-se um sub subtipo, que são nomeados com algarismos romanos. Assim, temos os sub subtipos A1 ou A2, por exemplo (Robertson et al., 2000).

A figura 2.3 exemplifica esquematicamente a classificação do HIV segundo seus tipos, subtipos e sub subtipos.

Figura 2.3 - Esquema de classificação do HIV segundo seus tipos, subtipos e sub subtipos

A variabilidade genética do vírus pode ser explicada através de seu ciclo reprodutivo, que é complexo e depende de todas as suas proteínas.

Após a fusão e interiorização da partícula viral no citoplasma da célula hospedeira, a TR transcreve o RNA genômico em uma fita dupla de DNA. Como a TR não possui capacidade de autocorreção, nessa etapa podem ser geradas variantes diversas do vírus, caso a TR atue de forma incorreta ou por falha de sua atividade reparadora (Coffin et al., 1997). Assim, como consequência, podem ocorrer

substituições incorretas de nucleotídeos (por volta de 10^{-5}) por ciclo de replicação. Considerando que a cada replicação o HIV adquire cerca de uma substituição de nucleotídeo e que são produzidas diariamente cerca de 10^{10} novas partículas virais, é possível imaginar a magnitude da diversidade gerada durante todo o curso clínico da doença no hospedeiro (Pinto; Struchiner, 2006).

Além desses erros durante a incorporação de nucleotídeos, a TR também é responsável pela recombinação entre distintos genomas virais no hospedeiro. Durante esse fenômeno, também conhecido como recombinação homóloga, pode ocorrer uma falha e a TR pode se deslocar de uma das fitas de RNA para a outra, gerando uma fita de DNA viral que contém segmentos dos dois RNAs iniciais. Mas a recombinação homóloga só é eficiente na geração de variabilidade genética viral se o hospedeiro apresentar infecção simultânea por duas variantes virais distintas (Pinto; Struchiner, 2006).

Após sua transcrição, o genoma viral é então inserido no DNA da célula hospedeira com o auxílio da enzima viral IN. A expressão subsequente dos genes virais resulta na transcrição do RNA a partir do DNA do HIV e na tradução das proteínas virais. As proteínas virais recém-formadas são longas unidades compostas de enzimas virais e proteínas estruturais ajuntadas (poliproteínas virais) que, após serem processadas pela PR, originam as proteínas e enzimas estruturais funcionais do vírus. Essa clivagem das poliproteínas gag-pol pela PR é que produz vírus infectantes maduros oriundos da célula hospedeira (Lee et al., 2012).

No início da infecção pelo HIV, a população viral é mais homogênea, mas como o processo de replicação viral é muito dinâmico, em menos de trinta minutos, metade da população viral circulante é repostada (Simon et al., 2006). Mas a cada “reposição” novas recombinações genéticas podem aparecer, aumentando o mosaico de formas virais e levando a imprevisíveis desfechos antigênicos e biológicos (Loureiro et al., 2002). A quantidade de recombinações que tem sido identificada é tão grande, que é possível verificar que caracterizam subepidemias regionais (Bonamigo et al., 2004; Sucupira; Janini, 2006).

Ainda não está claro se essa variabilidade genética apresentada pelo vírus pode traduzir-se em alterações no curso clínico da doença. Alguns estudos comparativos entre os subtipos A e D do HIV, sugerem que o subtipo D estaria

associado à demência e a uma progressão mais rápida para a morte (Sacktor et al., 2009).

2.2 O tratamento antirretroviral: drogas, grupamentos farmacológicos, esquemas terapêuticos e efeitos indesejáveis da terapia antirretroviral

Independente da variabilidade genética do vírus, a evolução natural da infecção pelo HIV caracteriza-se por intensa e contínua replicação viral que resulta, principalmente, na destruição e/ou disfunção de células T-CD4+ (Greene, 2007). A diminuição progressiva dessa população celular leva à imunodeficiência, que se manifesta clinicamente por meio da ocorrência de infecções oportunistas e neoplasias malignas. Retardar a progressão da imunodeficiência ou restaurar a imunidade, aumentaria o tempo e a qualidade de vida do paciente infectado. Dessa forma, o objetivo de uma terapia contra a AIDS é manter indefinidamente a supressão plasmática dos níveis de RNA viral abaixo dos limites de detecção de ensaios sensíveis, com a finalidade de diminuir ou reverter o dano imunológico (Mellors et al., 1996).

No início da epidemia, o tratamento da AIDS era baseado apenas no diagnóstico e tratamento dos efeitos deletérios da imunossupressão causada pelo HIV (Chequer et al., 1992). Em 1987, a zidovudina (AZT ou ZDV), um antineoplásico conhecido, foi licenciada para tratamento da infecção pelo HIV ao ter reconhecida sua propriedade de inibir a transcriptase reversa. O maior impacto do AZT foi observado na redução das taxas de transmissão vertical da doença, demonstrado por ensaio clínico randomizado controlado com placebo (Connor et al., 1994). Mas a sobrevida dos pacientes infectados mantinha-se curta (Palella et al., 1998).

Em meados da década de 1990 ficou claro que o esquema terapêutico mais adequado e disponível para conter a replicação viral teria que ser constituído, obrigatoriamente, da associação de classes diferentes de ARVs. Esse esquema terapêutico ficou conhecido, em inglês, como HAART (highly active antiretroviral therapy) e traduzido para o português como terapia antirretroviral altamente ativa ou terapia antirretroviral potente. Com a introdução sistemática da HAART foi possível

verificar que essa terapia proporcionava, circulante (Furrer; Fux, 2002; Bonamigo et al., 2004; Morimoto et al., 2005). Clinicamente, aos pacientes, aumento da taxa de linfócitos TCD4+ e diminuição da carga viral as alterações laboratoriais traduziram-se em diminuição da incidência de manifestações oportunistas com aumento da sobrevida dos pacientes (Barbiker et al., 2000; Dolder et al., 2004; Braga, 2005). Com o passar dos anos, tornaram-se disponíveis medicações antirretrovirais (ARV) mais efetivas e direcionadas às maiores enzimas do vírus (TR, PR e IN) e aos seus locais de fusão e adesão (Levy, 2009; National Institutes of Health, 2009).

Hoje existem disponíveis seis classes de ARVs que atuam em diferentes partes do ciclo celular (Ribera et al., 2011), a saber:

- Inibidores da transcriptase reversa nucleosídeos (ITRN) - Inibem a transcriptase reversa do HIV através de um mecanismo competitivo com os nucleosídeos/nucleotídeos fisiológicos, incorporam-se à cadeia de DNA viral interrompendo o alongamento da mesma e, como consequência, a replicação viral. Dividem-se em análogos de bases púricas: adenosinas (didanosina) e guanosina (abacavir) e análogos de bases pirimidínicas: timidina (ZDV e estavudina). Estes fármacos requerem três fosforilações no interior da célula para serem ativados, com exceção do tenofovir, que requer apenas duas (Ribera et al., 2011).
- Inibidores da transcriptase reversa não-nucleosídeos (ITRNN) - Inibem a transcriptase reversa do HIV através de um mecanismo não competitivo. Constituem um grupo heterogêneo, do ponto de vista molecular e se unem diretamente e de modo reversível ao centro catalítico da transcriptase reversa (ou a um lugar próximo a ele), provocando uma mudança conformacional na enzima e inibindo sua atividade DNA polimerase, tanto a dependente do DNA como a do RNA. Diferente dos ITRN, são diretamente ativos, não necessitam ser modificados por enzimas celulares. Não são ativos no HIV-2, são específicos do HIV-1, mas não são ativos frente às cepas do HIV-1 do grupo O (Marins et al., 2003; Ribera et al., 2011).

- Inibidores da protease (IP) - Bloqueiam a protease do HIV, impedindo a maturação das proteínas virais e inibindo de forma potente a replicação viral. A protease é uma enzima que atua fragmentando as proteínas precursoras de gag e gag-pol para formar os componentes polipeptídicos virais funcionais. A inibição da protease não impede que sejam sintetizados os grandes polipeptídeos virais codificados por gag e gag-pol, mas ao não se fragmentarem não são funcionais nem são produzidos vírus com capacidade infectiva. Os IPs têm uma estrutura química parecida com a dos peptídeos virais substrato da protease, com uma elevada afinidade para o domínio ativo da mesma, inibindo sua atividade catalítica. Atuam de forma direta sem necessitar de nenhuma transformação na célula (Ribera et al., 2011).
- Inibidores da integrase (II) - Atuam bloqueando a atividade da enzima integrase, evitando a integração do vírus no DNA da célula hospedeira. Estão indicados, em combinação com outros fármacos, para o tratamento de infecção pelo HIV-1, HIV-2, tropismo R5, X4 e R5/X4 (Ribera et al., 2011).
- Inibidores de fusão (IF) - Inibem a fusão do envelope viral do HIV com a membrana celular, impedindo a penetração do conteúdo viral nos linfócitos. Sua atividade frente ao HIV é dependente do correceptor utilizado (CCR5 ou CXCR4) e seu perfil de resistências é completamente diferente dos outros ARVs. A barreira genética é baixa e se não é acompanhado de outros fármacos ativos, rapidamente aparecem mutações de resistência, perdendo sua eficácia (Ribera et al., 2011).
- Antagonistas de receptores de quimiocinas (antagonista de CCR5) - Está indicado no tratamento da infecção pelo HIV-1 com tropismo pelo receptor CCR5, detectada mediante teste de tropismo e em combinação com outros fármacos ARVs. Atua bloqueando a entrada do HIV nas células humanas. Não é eficaz frente a vírus com tropismo dual, misto ou pelo CXCR4 (Ribera et al., 2011).

A tabela 2.1 evidencia os tipos de drogas desenvolvidas e aprovadas pelo FDA (Food and Drug Administration), segundo a classe farmacológica a qual pertencem e o ano em que foram aprovados pela FDA (Ammaranond; Sanguansittianan, 2012; FDA, 2013).

Tabela 2.1 – Drogas antirretrovirais aprovadas pelo FDA (Ammaranond; Sanguansittianan, 2012; FDA, 2013)

Data de aprovação pelo FDA	Nome comercial	Nome genérico	Empresa farmacêutica
Inibidores de fusão			
2003	Fuzeon	Enfuvirtida (T-20)	
Inibidores de CCR5 (entrada)			
2007	Selzentry (EUA) Celsentri (Europa)	Maraviroc	Roche Pharmaceuticals & Trimeris
Inibidores da transcriptase reversa nucleosídeos (ITRNs)			
1987	Retrovir	Zidovudina (AZT)	GlaxoSmithKline
1991	Videx	Didanosina (ddl)	Bristol-Myers Squibb
1992	Hivid*	Zalcitabina (ddC)	Roche Pharmaceuticals
1994	Zerit	Stavudina (d4T)	Bristol-Myers Squibb
1995	Epivir	Lamivudina (3TC)	GlaxoSmithKline
1998	Ziagen	Abacavir (ABC)	GlaxoSmithKline
2001	Viread	Tenofovir disoproxil (TVD)	Gilead Sciences
2003	Emtriva	Emtricitabina (FTC)	Gilead Sciences
Inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeos (ITRNNs)			
1996	Viramune	Nevirapina (NVP)	Boehringer Ingelheim
1997	Rescriptor	Delavirdina (DLV)	Pfizer
1998	Sustiva	Efavirenz (EFV)	Bristol-Myers Squibb
2008	Intelence	Etravirina (ETR)	Tibotec Therapeutics
2011	Edurant	Rilpivirina	Tibotec Therapeutics
Inibidores da Protease (IPs)			
1995	Invirase	Saquinavir (SQV)	Roche Pharmaceuticals
1996	Norvir	Ritonavir (RTV)	Abbott Laboratories
1996	Crixivan	Indinavir (IDV)	Merck
1997	Fortovase*	Saquinavir	Roche Pharmaceuticals
1997	Viracept	Nelfinavir (NFV)	Pfizer
1999	Agenerase*	Amprenavir (APV)	GlaxoSmithKline
2000	Kaletra	Lopinavir + Ritonavir (LPV/r)	Abbott Laboratories
2003	Reyataz	Atazanavir (ATV)	Bristol-Myers Squibb
2003	Lexiva	Fosamprenavir (FPV)	GlaxoSmithKline
2005	Aptivus	Tipranavir (TPV)	Boehringer Ingelheim
2006	Prezista	Darunavir (DRV)	Tibotec Therapeutics
Inibidores da Integrase			
2007	Isentress	Raltegravir	Merck
2013	Trivicay	Dolutegravir	GlaxoSmithKline
Combinações de drogas da mesma classe			
1997	Combivir	AZT+3TC	GlaxoSmithKline
2000	Trizivir	ABC+AZT+3TC	GlaxoSmithKline
2004	Epzicom	ABC+3TC	GlaxoSmithKline
2004	Truvada	TVD+FTC	Gilead Sciences
Combinações de drogas de diferentes classes			
2006	Atripla	EFV+FTC+TVD	Bristol-Myers Squibb & Gilead Sciences
2011	Complera	FTC+TVD+Rilpivirina	Gilead Sciences
2012	Strilbild	Evitegravir+Cobicistat+FTC+TDV	Gilead Sciences

*Não são mais fabricados

No Brasil, em 1988, o Sistema Único de Saúde (SUS) iniciou a distribuição das drogas para o tratamento das infecções oportunistas da AIDS. Em 1991 o SUS iniciou a distribuição gratuita do primeiro antirretroviral, o AZT, e em 1993 a de outros inibidores da transcriptase reversa. Ao final de 1996 os IPs foram adicionados a terapêutica ARV distribuída para a população HIV+. Recentemente, novas drogas tornaram-se disponíveis no Brasil, quase ao mesmo tempo em que eram lançadas no mercado internacional. O provimento dessas drogas foi acompanhado pelo desenvolvimento de uma rede nacional de laboratórios, que iniciou seu trabalho proporcionando acesso a exames de quantificação de CD4 em 1997 e de carga viral em 1998 (Chequer et al., 1992; Marins et al., 2003).

A tabela 2.2 demonstra as drogas ARVs distribuídas pelo SUS, segundo o ano de disponibilização.

Tabela 2.2 – Medicamentos antirretrovirais fornecidos pelo SUS no Brasil e o ano de início da distribuição

ANO	MEDICAMENTOS ANTIRRETROVIRAIS DISTRIBUÍDOS NO BRASIL	
1991	Zidovudina	100mg/cps
1992	Zidovudina sol. Oral	
1993	Didanosina	25mg/cpr
	Didanosina	100mg/cpr
1996	Zalcitabina	0,75mg/cpr
	Zidovudina Injetável	
	Lamivudina	150mg/cpr
	Lamivudina sol. oral	
	Ritonavir	100mg/cps
	Saquinavir	200mg/cps
	Indinavir	400mg/cps
1997	Estavudina	40mg/cps
	Estavudina	30mg/cps
	Ritonavir sol. oral	
1998	Didanosina pó p/sol. oral	
	Zidovudina+Lamivudina	300+150mg/cpr
	Nelfinavir	250mg/cpr
	Nelfinavir pó p/ sol. oral	
	Nevirapina	200mg/cpr
1999	Estavudina pó p/sol. oral	
	Delavirdina	100mg/cpr
	Efavirenz	200mg/cps
2000	Efavirenz	50mg/cps
	Efavirenz	100mg/cps
	Nevirapina susp. Oral	
2001	Amprenavir	150mg/cps
	Amprenavir 15mg/ml/sol. oral frs	240ml
	Abacavir	300mg/cps
	Abacavir sol oral	

2002	Efavirenz 30mg/ml sol. Oral Lopinavir 133,33mg + Ritonavir Lopinavir/Ritonavir Saquinavir	33,3mg/cps (80mg+20mg 200mg/cps gel mole
2003	Efavirenz Tenofovir	600mg/cpr 300mg/cpr
2004	Atazanavir Atazanavir Enfuvirtida	150m/cps 200m/cps 90mg/ml
2005	Didanosina EC Didanosina EC	250mg/cps 400mg/cps
2007	Fosamprenavir Lopinavir 200mg + Ritonavir	700mg/cps 50mg/cp
2008	Darunavir Raltegravir	300mg/cpr 400mg/cpr
2009	Atazanavir	300mg
2010	Lopinavir 100mg + Ritonavir	25mg/cpr

Fonte: NCDM – Núcleo de Controle e Distribuição de Medicamentos do Programa Estadual DST/AIDS – São Paulo – SP.

Mas a terapia antirretroviral (TARV) em longo prazo também tem apresentado inconvenientes (Levy, 2009). Os primeiros a serem identificados foram os efeitos adversos da TARV, que podem manifestar-se através da toxicidade direta da medicação, levando a alterações hematológicas, gastrointestinais, hepáticas e metabólicas, entre outras (Burgoyne; Tan, 2008). A síndrome da reconstituição imune (SRI) também aparece entre esses efeitos, mas não como efeito direto da medicação. Neste caso a TARV induziria, secundariamente, uma resposta inflamatória hiperativa com consequente perda da resposta antígeno específica e dos mecanismos imunomodulatórios, levando ao aparecimento de infecções subclínicas prévias ou a deterioração de infecções oportunistas preexistentes (Mori; Levin, 2009).

A grande preocupação, atualmente, quanto aos efeitos indesejados da TARV, é a identificação da crescente resistência às drogas antirretrovirais em pacientes portadores do HIV. A identificação de cepas de HIV resistentes à medicação não é um assunto novo (Erice et al., 1993), mas tem apresentado proporções maiores em decorrência do significativo número de pacientes que apresenta falência em face da combinação de drogas (Young et al., 1998; Mono et al., 1999; Bachelier et al., 2000; Vergne et al., 2000).

A resistência do HIV aos antirretrovirais é produto de sua alta taxa de replicação e mutação combinadas a sua capacidade de integração genômica e latência. A meia-vida das células infectadas é curta (em torno de 1 a 2 dias), e o *turnover* viral é extremamente alto, com a produção de 10^8 de virions por dia (Perelson et al., 1996). A transcriptase reversa do HIV não tem capacidade de analisar as novas sequências resultantes da replicação viral e eliminar as que não estão de acordo com a sequência original, permitindo desta forma que ocorram mutações espontâneas (Havlir; Richman, 1996).

Assim, como resultado do alto *turnover* viral, forma-se a cada dia pelo menos uma mutação em cada ciclo de replicação, permitindo teoricamente que qualquer das mutações associadas a resistência medicamentosa possa ocorrer no mínimo uma vez por dia (Haase, 1999; Clavel; Hance, 2004).

Sob a pressão seletiva da TARV, só a variante com maior capacidade de replicação nessas condições será capaz de emergir e tornar-se dominante. Assim, a

mudança das drogas leva a uma mudança da cepa dominante e a falha na TARV, em suprimir a replicação do HIV-1, pode ser causada pelo aparecimento de cepas virais seletivas com suscetibilidade reduzida à medicação (Camacho, 2009).

A resistência viral, a toxicidade das drogas atualmente disponíveis, e a necessidade de alta adesão ao tratamento tornaram a abordagem clínico terapêutica da infecção pelo HIV cada vez mais complexa nos últimos anos (Raboud et al., 2002).

A necessidade de instituição do tratamento antirretroviral é consenso internacional, mas persistem questionamentos no que se refere ao melhor momento para se iniciar a terapêutica e qual a melhor combinação de drogas (Gulick et al., 2007; Riddler et al., 2008; Wilkin; Gulick, 2008).

No Brasil (2013) o Ministério da Saúde recomenda que seja iniciada a TARV em pacientes sintomáticos, independente da contagem de linfócitos T CD4+; em pessoas assintomáticas com contagem de linfócitos T CD4+ abaixo de 500 células/mm³ e em pessoas assintomáticas com contagem de linfócitos T-CD4+ maior que 500 células/mm³ coinfectados pela hepatite B e com indicação de tratamento da hepatite. Além disso, deve-se considerar o início da TARV em pacientes com doença cardiovascular ou risco cardiovascular elevado e neoplasias que necessitam de tratamento imunossupressor, mesmo para pacientes com LT-CD4+ superior a 500 células/mm³. Cabe lembrar que, antes de 2013, as recomendações do MS estipulavam contagem de linfócitos T CD4+, para início da TARV, em 350 cels/mm³.

A decisão de iniciar a TARV deve considerar também o desejo do paciente se tratar, sua compreensão sobre as mudanças que o tratamento pode trazer a sua vida e o empenho que será necessário para a manutenção da adesão adequada ao tratamento. Devem ser considerados igualmente, o risco de desenvolvimento de efeitos colaterais, a chance de o paciente aderir ao esquema prescrito, o risco do desenvolvimento de resistência e a limitação de futuras opções terapêuticas (Wilkin; Gulick, 2008).

A terapia não deve ser iniciada até que os objetivos e a necessidade de adesão ao tratamento sejam entendidos e aceitos pelo paciente. Entre os fatores

que podem levar a baixa adesão, está a ocorrência de efeitos colaterais; esquemas com posologias incompatíveis com as atividades diárias do paciente; número elevado de comprimidos/cápsulas; necessidade de restrição alimentar; não compreensão da prescrição e a falta de informação sobre os riscos da não adesão (Brasil, 2002).

A erradicação do HIV não pode ser obtida com os esquemas terapêuticos atualmente disponíveis (Marins et al., 2003; Brasil, 2008; Wilkin; Gulick, 2008). Apesar dos avanços terapêuticos estima-se que 10 a 20% dos pacientes que iniciam o tratamento com os esquemas atuais, após alguns meses de terapia não conseguem suprimir a viremia de forma satisfatória. Esses pacientes apresentam o que é conhecido como resistência primária aos ARVs, que é caracterizada por estar presente antes do início da TARV, estando relacionada a transmissão de cepas resistentes. A resistência secundária aparece em cerca de 40 a 50% dos pacientes, após o uso da TARV, emergindo após a pressão de seleção exercida pelos medicamentos ARVs. Geralmente esses pacientes apresentam boa resposta inicial, mas a falha virológica apresenta-se após um ano de tratamento, sendo a taxa de resposta virológica aos tratamentos de resgate subsequentes progressivamente menor (Wilkin; Gulick, 2008; Tancredi, 2010). Assim, o desenvolvimento de falha terapêutica, principalmente por resistência às drogas atualmente disponíveis, é um fenômeno esperado (Sprinz et al., 2009).

Vários fatores podem contribuir para a falha terapêutica (e consequente aparecimento de mutações de resistência), como a absorção deficiente do fármaco, eliminação acelerada da medicação, penetração deficiente em alguns santuários e interações com outros medicamentos. Mas é a baixa adesão do paciente ao tratamento que geralmente aparece como uma das causas mais frequentes. Algumas características relacionadas ao perfil farmacocinético dos medicamentos também podem favorecer a seleção de mutações de resistência (Diaz, 2011).

Já foram identificadas diversas mutações no HIV-1 que se traduzem clinicamente como resistência às medicações utilizadas (Pieniazeck et al., 2000; Couto-Fernandez et al., 2005; Cavalcanti et al., 2007; Soares et al., 2007). Segundo Diaz (2011), essas mutações são designadas de “principais ou primárias” quando produzem significativa perda de suscetibilidade ao ARV que a selecionou

(geralmente é a primeira mutação que emerge frente ao uso do ARV) e “secundárias ou acessórias” quando emergem para recuperar a capacidade adaptativa do vírus, perdida pelo aparecimento da mutação principal e levando a uma perda pequena de suscetibilidade ao ARV que a selecionou. Todavia, o impacto clínico destas diferenças na eficácia da TARV não está completamente elucidado e segue sendo motivação de pesquisas (Frater et al., 2002; Lacerda et al., 2007; Martínez-Cajas et al., 2008).

2.3 Falha terapêutica: mutações de resistência do HIV, genotipagem, fenotipagem e consequências clínicas

Define-se falha terapêutica quando o paciente apresenta falha clínica (presença de infecção oportunista mesmo estando sob TARV), falha imunológica (queda progressiva na contagem de CD4+) ou falha virológica (aumento de carga viral maior que 0,5 log ou carga viral constantemente detectável - >400 cópias/mL) (Focaccia; Veronesi, 2007).

A falha virológica está vinculada a resistência viral, que é definida pela presença de mutações no genoma viral que reduzem a suscetibilidade do vírus a determinados tipos de droga, quando comparado ao vírus selvagem. Assim, a eficácia de um tratamento antirretroviral depende da atividade individual das drogas ARVs e do número de mutações do HIV-1 requeridas para o desenvolvimento de resistência a cada ARV (Tang; Shafer, 2012).

Com a finalidade de identificar drogas “ativas” e drogas “resistentes” para cada tipo de paciente, podem ser utilizados testes de fenotipagem e genotipagem.

Os testes de suscetibilidade fenotípica medem a replicação viral, em cultura de células, na presença de diversas diluições de ARVs. A determinação da inibição da replicação viral em decorrência do aumento das concentrações de ARV cria uma curva sigmoideal dose-responsiva que, em resumo, é a concentração do ARV que inibe 50% da replicação viral (IC_{50}). A IC_{50} de um ARV não pode ser traduzida diretamente para a atividade *in vivo* dessa mesma medicação porque o inóculo do

vírus e as células utilizadas no ensaio fenotípico comumente não refletem as condições *in vivo*. Assim, os testes de suscetibilidade fenotípica determinam a atividade antiviral de uma droga contra um isolado específico de HIV-1 e contra um isolado controle de vírus selvagem. Dessa forma obtém-se a quantidade de medicamento necessária *in vitro* para inibir a replicação do vírus do paciente e a quantidade necessária para inibição de um vírus selvagem. O valor numérico que reflete a perda de suscetibilidade do vírus de um paciente a um determinado ARV em um teste de fenotipagem é chamado de “dobra de resistência” (“fold resistance”) e calcula-se dividindo o IC_{50} do paciente pelo IC_{50} do vírus selvagem. Quanto mais elevada for essa dobra, maior a perda de suscetibilidade do vírus do paciente. Assim se, por exemplo, a diferença entre os IC_{50} da cultura do vírus do paciente e da cultura do vírus selvagem for igual a 10, significa que foi necessário usar 10 vezes mais ARV para inibir o vírus do paciente do que para inibir o vírus selvagem. Os testes de fenotipagem têm sido reservados para pesquisas, sugerindo-se que para a prática clínica sejam utilizados os testes de fenotipagem virtual (Whitcombe et al., 2002b; Basavapathruni et al., 2006; Diaz, 2011; Tang; Shafer, 2012).

O teste genotípico, feito através do PCR (reação em cadeia da polimerase), produz uma sequência de nucleotídeos usualmente abrangendo todos os 297 nucleotídeos (ou 99 aminoácidos) da PR e a região que abrange as posições 40-240 da TR (a parte da TR que contém a grande maioria das mutações de resistência dos ITRN e ITRNN). A sequência de nucleotídeos é então traduzida em sequência de aminoácidos e é então comparada com a sequência de um vírus selvagem do subtipo B (utilizado por ser o mais frequente nos Estados Unidos e na Europa, mas também é o mais frequente no Brasil). A diferença encontrada gera uma lista de mutações que são nomeadas com abreviaturas de uma letra para a sequência de aminoácido originalmente encontrada no vírus selvagem, seguida pela posição do aminoácido e pela letra da mutação de aminoácido encontrada. Por exemplo, a mutação na TR “M184V” indica que o vírus analisado teve a metionina (M), na posição 184, substituída por uma valina (V). Como o sequenciamento direto por PCR é executado em uma população de genomas virais, não é incomum detectar mais de um aminoácido em uma posição. Por exemplo, a notação “M184M/V” significa que vírus com ambos os aminoácidos (M e V) foram detectados na posição 184. Antes que o resultado do teste seja relatado ao médico, a lista de mutações em

uma sequência deve ser examinada para identificar as mutações sabidamente associadas com a diminuição na suscetibilidade ao ARV (Tang et al., 2012).

A fenotipagem virtual é executada confrontando os dados obtidos na genotipagem, com um banco de dados de mais de 60.000 amostras que possuíam resultados pareados de fenotipagem e genotipagem. O sistema identificará nesse banco de dados o perfil mais parecido com a sequência de nucleotídeos submetida. Como cada sequência de nucleotídeos do banco de dados possui um resultado de fenotipagem correspondente é possível prever a suscetibilidade fenotípica do HIV estudado aos ARVs (Diaz, 2011). O mais conhecido sistema computacional que auxilia o clínico na identificação das resistências a drogas ARVs a partir dos testes de genotipagem é de domínio público e está disponível em sítio eletrônico¹. Esse banco de dados é chamado de HIVDB (HIV database) e foi desenvolvido e é alimentado por profissionais da Universidade de Stanford, nos Estados Unidos da América (Stanford University, 2013). O HIVDB é público, mas existem outros algoritmos para interpretação genotípica do HIV. Em 2004 o Instituto de Matemática e estatística da Universidade de São Paulo (IME) junto com o Programa Nacional de DST/AIDS do Ministério da Saúde desenvolveram e lançaram o algoritmo nacional que está disponível em sítio eletrônico².

A quantidade de mutações identificadas até hoje na PR e na TR é extremamente elevada e a cada dia são identificadas novas mutações. No HIVDB podem ser identificadas 40 posições de mutação para a TR e 36 para a PR, sendo que existe uma grande variabilidade de substituições de aminoácidos identificadas. A tabela 2.3 ilustra as mutações encontradas na PR e na TR identificadas até 2010 (Diaz, 2011).

¹ <http://sierra2.stanford.edu/sierra/servlet/JSierra?action=mutationsInput>

² http://algoritmo.aids.gov.br/atualizacao_algoritmo/site/

Tabela 2.3 – Mutações na TR e PR (*in vivo* e *in vitro*) que conferem resistência aos ARVs específicos. “X” significa a presença de qualquer aminoácido na inserção do códon 69. “Ins” significa inserção (Diaz, 2011)

Mutações nos aminoácidos da TR

V35I; V35M; T39A; E40F; M41L; K43D; K43E; E44A; E44D; S48T; I50T; D57H; V60I; A62V; K65R; K65K; K66K; Δ67; D67G; D67N; Δ68; S68G; S68R; INS69; T69A; T69D; T69G; T69I; T69K; T69N; T69S; T69SX; T69TX; T69SXX; T69TXX; T69TTRVMG; T69TIKKKNSE; T69TSTGKKDST; Δ70; K70E; K70G; K70N; K70R; W71L; R72A; R73K; L74I; L74V; V75A; V75M; V75S; V75I; V75L; V75T; F77L; R83K; W88C; W88S; W88G; E89G; E89K; L92I; A98G; A98I; A98S; A98V; L100I; L100V; A101P; K101A; K101E; K101I; K101Q; K101T; K102Q; INS posições 102 e 103; K103E; K103G; K103H; K103N; K103Q; K103R; K103S; K103T; V106A; V106I; V106M; V108I; V111G; V111I; V112E; D113E; D113G; A114G; A114T; A114S; Y115F; Y115H; Y115N; F116Y; S117T; V118I; P119S; K122E; I135A; I135K; I135L; I135M; I135R; I135R; I135V; E138A; E138Q; E138D; E138F; E138G; E138Y; E138K; E138R; T139I; G141E; Y144F; Q145L; Q145M; Q151H; Q151L; Q151M; Q154L; S156A; P157S; Q161L; A162Y; C162W; S162H; S162A; S163N; M164I; T165A; T165I; T165R; K166R; R172K; Q174K; I178L; I178M; V179D; V179F; V179I; V179E; V179T; Y181C; Y181I; Y181H; Y181S; Y181W; Y181L; Y181V; M184I; M184T; M184V; Y188C; Y188D; Y188H; Y188L; Y189I; G190A; G190E; G190S; G190C; G190D; G190F; G190H; G190L; G190P; G190Q; G190R; G190T; G190V; G196E; G196R; I202V; E203D; E203K; Q207D; Q207E; H208Y; L210W; R211A; R211D; R211G; R211S; R211K; L214F; T215C; T215D; T215S; T215I; T215F; T215Y; T215N; T215V; D218E; E219D; K219Q; K219R; K219W; H221Y; K223E; K223Q; P225H; F227L; F227C; L228R; L228H; L228M; W229Y; M230I; M230L; V233E; L234I; P236L; P236A; P236H; P236R; P236T; D237E; K238S; K238T; T240I; M245T; M245V; T253S; I257A; Q258A; L260A; G262A; K263A; N265A; W266A; N265D; L283I; R284K; Y318F; Y318W; S322T; G333D; G333E; G335C; G335D; T369I; N348I; R356K; G359S; A360I; A360T; A360V; V365I; T369I; A371V; A376S; T376A; T377L; T386I; K390R; E399D; A400T; K451R; L469T; L469I; L469M; L469H; K470P; K470S; K470E; K470K; Q509L; A554T; A554L; A554K; K558R; K558G; K558E

Mutações nos aminoácidos da PR

W6R; R8K; R8Q; L10F; L10I; L10R; L10S; L10V; I11V; T12A; T12I; I13A; I13V; I15A; I15V; V15A; G16A; G16E; D17N (G17N); G17GR; Q18HL; Q18QL; Q18QI; K20I; K20M; K20R; K20T; A22AV; L23V; L24I; L24M; D25DH; A28S; D30N; L31LL; V32I; L33F; L33I; L33V; E34K; E34Q; E35D; E35EG; E35ETN; E35X; M36I; M36V; M36L; M36TNL; N37D; S37N; G40GK; R41K; R41T; K43T; E44P; K45I; K45R; M46F; M46I; M46L; I47A; I47L; I47V; G48E; G48V; G48M; I50L; I50V; G52S; F53L; I54L; I54T; I54V; I54M; K55R; K57R; R57K; Q58E; D60E; D60N; D60Y; Q61D; I62V; L63A; L63P; L63T; L63I; L63Q; L63V; I64V; H69N; H69Y; K70E; A71T; A71V; A71L; I72L; G73A; G73S; G73T; T74A; T74S; T74P; V75I; L76M; L76V; V77I; T80I; P81S; P81T; I82A; I82F; I82L; I82M; I82T; V82A; V82D; V82E; V82F; V82I; V82S; V82T; V82L; V82F; V82M; V82S; I84A; I84C; I84L; I84V; I85V; N88D; N88G; N88S; I89V; L89I; L89M; L89V; M89I; M89V; L90I; L90M; T91S; I93L; C95F; L97V; L99F

Mutações nos aminoácidos na região da RNase H relacionadas a resistência a ITRN e ITRN em processo de coevolução

E312Q; G335C/D; N348I; G359A; A360I/V; V365I; T369I/V; A371V; A376S; T377L; T386I; K390A/R; K395A; E396A; E399D; T400A; K451R; L469T/I/M/H; T470P/S/E/K; T473M; Q475A; K476A; D488E; D488E; Y501A/F; I505A; Q509L; K512R; H539N; Q547K; D549N; A554T/L/K; K558R/G/E

Abreviação de aminoácidos: A, alanina; C, cisteína; D, aspartato; E, glutamato; F, fenilalanina; G, glicina; H, histidina; I, isoleucina; K, lisina; L, leucina; M, metionina; N, asparagina; P, prolina; Q, glutamina; R, arginina; S, serina; T, treonina; V, valina; W, triptofano; Y, tirosina. Adaptado de “Guia para o manuseio da resistência antirretroviral”, Ricardo Sobhie Diaz, 2011.

Mas nem todas as mutações identificadas até hoje representam alterações clínicas, resultando em resistência específica a medicações. A tabela 2.4 demonstra os códons (principais e acessórios) relacionados com resistência aos ARVs.

Tabela 2.4 – Mutações relacionadas com resistência aos ARVs (ITRN, ITRNN, IP). Entre parênteses estão os códons acessórios (Johnson et al., 2013)

Mutações no gene da TR relacionadas a resistência aos ITRNs

ZDV - M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y/F, K219Q/E
3TC - M184V/I, K65R
FTC – M184V/I, K65R
d4T - M41L, D67N, K65R, K70R, L210W, T215Y/F, K219Q/E
ddl - K65R, L74V
ABC - Y115F, K65R, L74V, M184V
TDF - K65R, K70E
MDR - Ins 69*, Q151M (A62V, V75I, F77L, F116Y)

Mutações no gene da TR relacionadas a resistência aos ITRNNs

NVP - L100I, K101P, K103N/S, V106A/M, V108I, Y181C/I, Y188L/H/C, G190A, M230L
EFV - L100I, K101P, K103N/S, V106M, V108I, Y181C/I, Y188L, G190S/A, P225H, M230
ETR - Y181I/C/V, L100I, K101P, (V106I, E138A/G/K/Q, V179F/T/D, M230L, G190A/S, V90I, A98G, K101E/H)
Rilpivirina – K101E/P, E138A/G/K/Q/R, V179L, Y181C/I/V, Y188L, H221Y, F227C, M230L/I

Mutações no gene da PR relacionadas a resistência aos IPs

IDV - M46I/L, V82A/F/I/S/T, I84V/A/C, (L10I/R/F/V, K20M/R/T/I, L24I, V32I, E35D, M36I/L/V, G48V, I54L/T/V, R57K, Q58E, L63A/I/P/Q/V/Y/T, A71T/V, G73S/T/C/A, L76V, V77I, N88D/S, L89M/V, L90M, I93L)
RTV - V82A/F/I/S/T, I84V/A/C, (L10I/R/F/V, G16E, K20M/R/T/I, L24I, V32I, L33I/F/V, E34K, M36I/L/V, G48V, F53L, I54L/T/V, Q58E, D60N, I62V, L63A/I/P/Q/V/Y/T, A71T/V, L90M)
SQV - G48V, I84V/A/C, L90M, (L10I/R/F/V, T12I, K20M/R/T/I, D30N, V32I, M36I/L/V, M46I/L, F53L, I54L/T/V, R57K, Q58E, D60N, I62V, L63A/I/P/Q/V/Y/T, A71T/V, G73S/T/C/A, T74S, L76M, V82A/F/I/S/T, N88D/S)
NFV - D30N, L90M, (L10I/R/F/V, I13V, K20M/R/T/I, M36I/L/V, M46I/L, G48V, I54L/T/V, Q58E, D60N, I62V, L63A/I/P/Q/V/Y/T, V77I, V82A/F/I/S/T, I84V/A/C, N88D/S, 93L)
FPV - I50V, I84V/A/C, (L10I/R/F/V, L11I, 2K0M/R/T/I, 24I, V32I, L33I/F/V, R41K, K43R, M46I/L, I47A/V, G48M, I54L/T/V, 58E, L63A/I/P/Q/V/Y/T, 71V/T, G73S/T/C/A, L76V, V82A/F/I/S/T, L89V/T, L90M)
LPV - L10I/R/F/V, G16E, K20M/R/T/I, L24I, V32I, L33I/F/V, E34Q, M36I/L/V, K43T, M46I/L, I47A/V, G48V, I50V, F53L, I54L/T/V, Q58E, L63A/I/P/Q/V/Y/T, A71T/V, G73S/T/C/A, T74S, V82A/F/I/S/T, I84V/A/C, L89M/V, L90M, T91S
ATV - I50L, N88S, I84V/A/C, (L10I/R/F/V, K20M/R/T/I, L24I, V32I, L33I/F/V, M36I/L/V, 45V, M46I/L, G48V, 53L, I54L/T/V, L63A/I/P/Q/V/Y/T, A71T/V, G73S/T/C/A, V82A/F/I/S/T, L88D/S/T, L89M/V, L90M)
TPV - L10I/R/F/V, 13V, I15V, K20M/R/T/I, 32I, L33I/F/V, E35D, M36I/L/V, N37D, R41K, K43T, K45I, M46L, I47A/V, I54L/T/V, 58E, D60N, A71T/V, 74P, V82T, 83D, I84V/A/C
DRV - L11L, I15V, V32I, L33F, E34V, 35G/N, 41I/T, I47F, I50V, I5454L/M/A/S/T/V, K70E, G73S, T74E/P, L76V, V82A/T/F/S/L/M, 84V/A/C, I85V, L89V, L90M

Ins – inserção; del – deleção; MDR – resistência a múltiplos fármacos; Adaptado de Johnson et al. (2013)

Recentemente vêm sendo estudadas e interpretadas mutações específicas e que resultam em resistência específica a regimes contendo AZT. Essas mutações são denominadas de mutações dos análogos da timidina (TAM) e sua presença confere resistência aos ITRN, particularmente ao AZT e d4T. São divididas em duas vias, a TAM1 com as mutações M41L, L210W e T215Y; a TAM2 com as mutações D67N, K70R, T215F e K219Q. A relevância clínica das TAMs é determinada pela sua influência na resposta virológica aos ITRNs. O HIV-1 com TAMs apresenta suscetibilidade reduzida a todos os ITRNs. Porém, as mutações TAM1 causam resistência cruzada ao AZT, DDI e TDF, enquanto os vírus que contêm mutações TAM2 permanecem suscetíveis a essas drogas (Novitsky et al., 2007).

Ainda que as mutações primárias sejam relativamente específicas para cada tipo de droga, o efeito deletério dessas mutações pode ser reduzido de forma eficiente pela seleção de mutações compensatórias adicionais (secundárias) (Maisnier-Patin; Andersson, 2004). Essa evolução compensatória normalmente resulta na restauração da estrutura e função da TR ou da PR e em geral aumenta o nível de resistência à droga. Por exemplo, a seleção D67N, K219Q e K70R, em vírus que possuem a mutação T215Y, aumenta os níveis de resistência fenotípica ao AZT e melhora a síntese de DNA pelas TRs mutantes (Caliendo et al., 1996). Por outro lado, em alguns casos, a seleção de mutações compensatórias não está associada ao aumento nos níveis de resistência a drogas. Esse fato pode ser evidenciado, por exemplo, nas mutações de resistência aos IPs que possuem M36I, I54V e V82T e que adquirem A71V e K20R para compensação da redução da atividade catalítica da PR, mas não apresentam aumento na resistência ao ritonavir (Nijhuis et al., 1999).

Esse conhecimento acumulado também compõe o HIVDB. Nesse sistema são lançadas as diversas mutações presentes nas principais enzimas do vírus e a análise é executada, levando em consideração as associações entre mutações e as consequências clínicas conhecidas para que se determine se existe ou não resistência a uma medicação específica. Essa análise origina um algoritmo de interpretação de resistência genotípica que expõe a suscetibilidade do conjunto de mutações apresentadas pelo paciente e as drogas potencialmente ativas nesse contexto (Stanford University, 2013).

As mutações adicionais de resistência podem recuperar o *fitness* perdido pelo vírus, especialmente se ocorrem na PR. O *fitness* é a capacidade adaptativa de um vírus em determinado ambiente, que se traduz em sua capacidade replicativa. Em condições naturais o vírus selvagem possui maior *fitness* que o mutante, mas o vírus com mutações de resistência é o que possui melhor *fitness* frente a um ambiente com ARVs (Diaz, 2011).

Contudo, apesar do acúmulo de mutações compensatórias, os vírus resistentes a drogas geralmente apresentam diminuição da capacidade de replicar-se eficientemente (*fitness* viral), quando comparados com vírus selvagens. O vírus mutado escaparia da terapia utilizada pelo paciente, mas não teria capacidade suficiente para reproduzir-se com a mesma intensidade de um vírus selvagem e isso clinicamente traduzir-se-ia em um paciente que diminuiria consideravelmente sua carga viral após o uso da TARV, mas que manteria sua CV em níveis detectáveis (Nijhuis et al., 2001). Assim, a redução no *fitness* viral e na capacidade de replicação de vírus resistentes a drogas tem sido associada com respostas imunológicas sustentáveis em pacientes que falham a terapia antirretroviral, sugerindo que vírus com baixa capacidade de replicação podem ser menos patogênicos. Mas a manutenção do mesmo esquema terapêutico por longos períodos leva ao acúmulo progressivo de mutações de resistência que pioram a suscetibilidade do vírus, aumentam a resistência cruzada e recuperam o *fitness* do vírus (Diaz, 2011). Mutações que conferem custo baixo e moderado de *fitness* têm o potencial de persistir por longos períodos em oposição àquelas que têm alto impacto no *fitness* viral (García-Lerma, 2005).

A interrupção da TARV em pacientes que possuem vírus resistentes a drogas, geralmente resulta num rápido aumento de vírus mutantes, mas também na reversão da população viral com o reaparecimento dos vírus sensíveis não mutados em decorrência da oligoclonalidade do HIV-1 (García-Lerma, 2005).

Os perfis genotípicos das mutações de resistência das principais enzimas do HIV tem grande valor clínico, particularmente para definir o tratamento antirretroviral a ser ministrado ao paciente. Mas a identificação de cepas mutantes e selvagens do HIV-1 também traz conhecimento sobre a imunidade circulante do paciente. Sabe-se que a destruição de células T CD4+ está vinculada a mecanismos diretos e indiretos

da toxicidade viral. Os vírus selvagens têm sido associados não só a indução direta da apoptose das células infectadas como a ativação celular que induziria a fenômenos apoptóticos, aumentando a perda desses linfócitos (Sharma et al., 2012). Recentemente Diaz (2011) sugeriu que não só os vírus selvagens, mas os mutados, a partir de um grande número de mutações, induziriam a ativação celular e que esta seria superior, inclusive a dos vírus selvagens.

A contagem de células T CD4⁺ e a progressão da doença têm sido associadas também a genes, polimorfismos, mutações específicas, receptores de quimiocinas e a subtipos virais e CRFs. Foram verificados, por exemplo, um decréscimo mais rápido da contagem de CD4 e, conseqüentemente, uma progressão mais rápida da doença nos subtipos D e BF, na CRF01AE e em vírus X4 (Sundaravaradan et al., 2007; Easterbrook et al., 2010; Ng et al., 2011; Sucupira et al., 2012; Bizinoto et al., 2013; Sucupira et al., 2013; Tarosso et al., 2013). Mutações específicas, como a V118I foram associadas ao aumento da carga viral, diminuição de CD4 e o estágio C da classificação da infecção pelo HIV (estadiamento segundo o CDC - Centers for Disease Control and Prevention, 2009) e seriam um forte marcador de progressão da doença (Zaccarelli et al., 2007).

Recentemente, os subtipos virais, além de estarem relacionados com a progressão da doença, também foram associados a manifestações clínicas específicas da AIDS, como as alterações neurocognitivas associadas ao HIV (Liner et al., 2007; Sacktor et al., 2007; Sacktor et al., 2009; Boivin et al., 2010)

Independente da diversidade filogenética do vírus, de suas mutações e das possíveis correlações clínicas desses parâmetros, um dos grandes objetivos da comunidade científica atualmente é procurar evitar que novas cepas resistentes a TARV surjam diariamente. Com esse objetivo, a Organização Mundial de Saúde (OMS) desenvolveu uma estratégia, um conjunto de indicadores de alerta precoce (EWI - early warning indicators) para farmacorresistência do HIV (HIVDR – HIV drug resistance). Esta estratégia apoia o funcionamento ideal de programas de tratamento para minimizar a resistência a drogas preveníveis e manter a efetividade dos regimes ART de primeira e segunda linhas. A OMS recomenda que os países adaptem e implementem uma estratégia nacional, baseada na estratégia global, para avaliar e minimizar o aparecimento de HIVDR evitáveis (World Health

Organization, 2010).

A prevenção da HIVDR está associada com o cuidado ao paciente (prescrever e monitorar adequadamente), comportamento do paciente (adesão) e esforços dos programas/clínicas para reduzir a interrupção de tratamentos (seguimento, retenção de primeira linha de TARV, manejo na aquisição e suprimento de drogas antirretrovirais). Os EWIs medem esses fatores e os resultados têm sido utilizados para otimizar o resultado dos tratamentos de pacientes e populações (Bennett et al., 2008; Hedt et al., 2008; Hong et al., 2010; Bennett et al., 2012; Dzangare et al., 2012; Jack et al., 2012; Ma et al., 2012; Sigaloff et al., 2012;).

2.4 As manifestações bucais da AIDS no contexto da doença

A presença de manifestações bucais (MB) vinculadas à infecção pelo HIV tem sido motivo de estudo desde o início da epidemia de HIV/AIDS (Greenspan; Greenspan, 1987).

Inicialmente o objetivo das pesquisas era identificar quais seriam essas manifestações vinculadas à infecção pelo HIV e a melhor forma de manejá-las (Greenspan; Greenspan, 1987; Greenspan et al., 1992).

Após seu reconhecimento, as MB passaram a ser utilizadas também como indicadores da infecção pelo HIV em pacientes com sorologia desconhecida, tornando-se uma arma poderosa na identificação de novos casos de AIDS (Epstein; Mathias, 1988; Syrjänen et al., 1988; Greenspan; Greenspan, 1991). Isso foi possível em decorrência da publicação de diversos estudos epidemiológicos (Epstein; Mathias, 1988; Syrjänen et al., 1988; Greenspan; Greenspan, 1991; Lifson et al., 1994). Mas o grande marco foi a reunião de especialistas com a finalidade de formular um consenso, não só com relação as manifestações bucais da infecção pelo HIV e a seus critérios de diagnóstico, mas com relação ao seu poder específico de associação com a AIDS. Assim, em 1993, publica-se a primeira classificação de lesões bucais da AIDS que utilizava como ferramenta classificatória o poder associativo entre a manifestação bucal e a infecção pelo HIV. Doenças como a

candidíase, a leucoplasia pilosa (LP), formas específicas de doença periodontal, sarcoma de Kaposi e linfoma não-Hodgkin foram classificadas como fortemente associadas com a infecção pelo HIV e como condições indicativas da doença (EC-Clearinghouse on Oral Problems Related to HIV Infection and WHO Collaborating Centre on Oral Manifestations of the Immunodeficiency Virus, 1993).

Posteriormente, os estudos vincularam essas manifestações a padrões virológicos e imunológicos dos pacientes, identificando-as como marcadores de prognóstico e de progressão da doença do HIV (Selwyn et al., 1992; Lamster et al., 1994; Ramírez-Amador et al., 1996).

Ainda que os trabalhos apresentem diferenças quantitativas na prevalência das lesões, dependendo do país estudado (Ceballos Salobreña et al., 1996; Anil; Challacombe, 1997; Hodgson, 1997; Schmidt-Westhausen et al., 1997; Jonsson et al., 1998; Patton et al., 1998; Arendorf; Holmes, 2000), da faixa etária (Howel et al., 1996), do sexo (Shiboski et al., 1996) e da via de contaminação (Ramírez-Amador et al., 1998), foi a introdução da HAART que marcou sobremaneira a prevalência dessas manifestações (Ceballos-Salobreña et al., 2000; Gaitán-Cepeda et al., 2008; Ortega et al., 2008a; Ortega et al., 2008b; Ortega et al., 2009a; Franceschini et al., 2010; Trigueiro et al., 2010).

Com a inserção sistemática da HAART, a quantidade das lesões tradicionalmente vinculadas a AIDS diminuiu drasticamente, mas algumas doenças de boca que praticamente não eram contabilizadas anteriormente começaram a emergir, como o aumento bilateral de parótidas e o condiloma acuminado (Greenspan et al., 2001; Hodgson et al., 2006).

Outro efeito inesperado nos pacientes sob HAART foi a mudança de curso clínico e no comportamento de lesões conhecidas (Ortega et al., 2009b), além do aparecimento ou recrudescimento de doenças subclínicas em pacientes que apresentavam reconstituição imunológica e/ou virológica após o início da terapia (Ortega et al., 2008a).

Aos poucos foram sendo identificados efeitos sistêmicos indesejados da HAART nos pacientes (Burgoyne; Tan, 2008) como hiperlipidemia, dislipidemia, lipodistrofia, neuropatia, resistência à insulina, diabetes, cardiopatias, acidose

láctica, nefropatias, hepatopatias e distúrbios no metabolismo ósseo (Hofman; Nelson, 2006; Orellana et al., 2013). Os efeitos adversos da HAART puderam ser notados na odontologia em relação a alteração na cronologia de mineralização dentária (Trigueiro et al., 2010), a uma leve alteração na reparação óssea frente a instalação de implantes (Oliveira et al., 2011), presença de necrose avascular (Ortega et al., 2008a) e identificação de ateromas de carótida em radiografias panorâmicas de pacientes HIV+ (Silva Junior, 2013).

As lesões orais também têm sido identificadas como marcadores de eficiência da medicação antirretroviral, da adesão do paciente ao tratamento e de falência terapêutica (Gaitán-Cepeda et al., 2005; Miziara; Weber, 2006; Ramírez-Amador et al., 2007; Miziara; Weber, 2008; Ortega et al., 2009 a, b), bem como são capazes de prever a superioridade de certos esquemas antirretrovirais (Ortega et al., 2009 a,b).

Nesse contexto é possível imaginar que essas manifestações bucais talvez possam ser vinculadas a mutações de resistência a ARVs ou possam ser utilizadas como EWI.

3 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo foi descrever, em pacientes HIV+ apresentando falha terapêutica, o perfil de mutações do vírus e o perfil de resistência a antirretrovirais, e correlacioná-los as manifestações bucais da imunodeficiência.

4 CASUÍSTICA-MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Casuística

4.1.1 Desenho de Estudo

Estudo clínico retrospectivo, observacional, predominantemente descritivo, de corte transversal.

4.1.2 População amostral

Prontuários, laudos de genotipagem e informações de bancos de dados digitais de pacientes com AIDS, de ambos os sexos, que se submeteram a genotipagem no Centro de Referência e Treinamento em Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS (CRT-DST/AIDS), da Secretaria de Estado de Saúde de São Paulo, entre 2003 e 2010. A casuística foi obtida a partir do arquivo existente no serviço, com registro de todos os exames de genotipagem coletados na instituição e sob a guarda dos Médicos de Referência de Genotipagem (MRG).

4.1.3 Critérios de inclusão

Foram incluídos neste estudo os prontuários e informações de bancos de dados digitais de pacientes HIV+ que estavam em seguimento clínico no CRT-DST/AIDS e que tinham sido submetidos a, pelo menos, um exame de genotipagem para o HIV, entre 2003 e 2010 e a um exame intrabucal.

4.1.4 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo pacientes que não apresentavam prontuário no CRT-DST/AIDS, ou cujo prontuário não pode ser acessado por terem ido a óbito, por serem prontuários inativos ou por não terem sido encontrados os laudos de genotipagem. Também foram excluídos do estudo os pacientes que não possuíam exames laboratoriais (CD4 ou CV) até 6 meses antes da genotipagem ou exame clínico intraoral executados em um intervalo de 4 meses antes a 4 meses depois da genotipagem.

4.2 Material e Método

Para esta pesquisa foram utilizados laudos de genotipagem para o HIV, prontuários de pacientes do CRT-DST/AIDS e bancos de dados informatizados disponíveis no mesmo serviço.

Inicialmente foram resgatados todos os laudos de genotipagem para o HIV executados no CRT-DST/AIDS, entre 2003 e 2010 e que estavam sob a guarda do MRG.

Para ser elegível para a realização de genotipagem, os pacientes devem apresentar falha terapêutica e/ou virológica. O MRG avaliava o pedido feito pelo médico infectologista responsável pelo paciente, e encaminhava um formulário específico para a coleta, sendo registrado, a partir deste ponto, um número de genotipagem correspondente a cada exame e dissociado do número de prontuário. O paciente colhia o exame, que era encaminhado para o laboratório de referência da Rede Nacional de Genotipagem (RENAGENO), implementado em 2001 pelo Ministério da Saúde.

Todos os exames de genotipagem solicitados pelo CRT-DST/AIDS foram executados no Laboratório de Investigação Médica do Instituto de Medicina Tropical (LIM 56 – IMT).

Todas as genotipagens foram realizadas pela técnica de sequenciamento do DNA. A região genômica analisada é a *pol*, especificamente os códons da PR e TR. De 2001 a 2007 o teste utilizado pela RENAGENO foi o ViroSeq® v.2.6 (Applied Biosystems, CA, USA) e, a partir de 2008, o TRUGENE® HIV-1 Genotyping Assay (Siemens Healthcare Diagnostics, IL, USA) (Souza et al., 2011). Após esta etapa, as sequências genéticas foram analisadas por submissão ao algoritmo de interpretação brasileira de genotipagem, para análise da susceptibilidade aos ARV, disponível em http://algoritmo.aids.gov.br/atualizacao_algoritmo/site/. Foram determinadas as mutações presentes na TR e na PR e a suscetibilidade aos fármacos das classes ITRN, ITRNN e IP. Estes dados permitem a caracterização de subtipos do HIV na região da polimerase, circulantes nesta população.

Os laudos de genotipagem do CRT-D ST/AIDS encontravam-se impressos em papel, portanto foi desenvolvido um banco de dados no EPIINFO 6.0 para transferência dos seguintes dados presentes nos laudos: número de registro do paciente na RENAGENO, tipo viral, subtipo viral, presença de mutações na TR, presença de mutações na PR, resistência aos ITRNs, resistência aos ITRNNs, resistência aos IPs e número de drogas ativas.

De posse do número de registro do paciente na RENAGENO foi realizado um cruzamento dessa base de dados com o Sistema de Informação de Agravos de Notificação de São Paulo (SINAN-SP) pelo método de *linkage*, para obter a data do diagnóstico de AIDS de cada caso e dados demográficos. O banco de dados do SINAN-SP foi acessado através do Serviço de Epidemiologia do CRT-DST/AIDS.

A base de dados obtida foi posteriormente relacionada ao Sistema de Controle de Exames Laboratoriais (SISCEL), com o objetivo de extrair dados laboratoriais de contagem de células T CD4 e carga viral de cada paciente. Foram considerados dados laboratoriais de um período que incluía até 6 meses antes da data da genotipagem. As informações que não constavam na base de dados, construída pelo relacionamento do RENAGENO, SINAM e SISCEL, foram extraídas através de consulta direta aos prontuários dos pacientes.

Foram então acessados os prontuários de todos os pacientes que compuseram a base de dados final para buscar e acrescentar informações sobre a execução ou não de exame intraoral, quem havia realizado o exame (médico ou

dentista) e que tipos de manifestações bucais foram encontradas (virais, bacterianas ou fúngicas). As manifestações bucais foram consideradas caso tivessem sido identificadas em um intervalo de 4 meses antes da genotipagem a 4 meses após a genotipagem.

Com essas informações, a base de dados dos pacientes foi completada e iniciou-se a verificação de dados. Todos os bancos obtidos foram relacionados novamente com o SINAM, para a busca de homônimos por sobrenome, idade, nome da mãe, e número de genotipagem. O trabalho de avaliação de consistência de dados ocorreu ao longo das várias fases do processo, sempre que se observou alguma inconsistência, e por último quando da interpretação de resultados, com checagem em todas as fontes de informação.

4.2.1 Análise dos dados

Inicialmente realizou-se uma análise descritiva da população do estudo para verificação dos padrões de distribuição e tendências das principais variáveis categóricas e contínuas, e a verificação da consistência dos dados.

O evento lesões orais ou manifestações bucais oportunistas (MBO) foi escolhido como variável dependente para a realização desta análise. Os riscos para MBO foram estudados para todas as variáveis independentes de interesse, que são:

- 1) Características sociocomportamentais, clínicas e laboratoriais: sexo, idade na data da genotipagem, CD4, CV, genotipagem, data do diagnóstico de AIDS, data da genotipagem, cor da pele, categoria de exposição ao HIV, número de esquemas ARVs utilizados até a genotipagem, tipos de lesão oral.
- 2) Características identificadas com a genotipagem: identificação de subtipos virais, mutações na TR, PR, resistência a ARVs e número de drogas ativas.
- 3) Análise dos códons de mutação

Aplicou-se análise univariada, a fim de ajustar as variáveis para a análise no modelo. Calculou-se o *odds ratio* para cada variável independente, utilizando intervalo de confiança de 95%.

Foram cruzados dados sobre mutações encontradas no vírus e resistência às medicações com a presença e o tipo de manifestações bucais.

O teste de *Bartlett* foi utilizado para testar a normalidade dos dados. Para variáveis sem distribuição normal foram aplicados os testes de *Mann-Whitney* ou *Kruskal-Wallis*. Para comparação entre frequências e proporções, foi utilizado o *Teste de Exato de Fisher* ou o *Qui quadrado*. O nível de significância foi estabelecido como 0,05 ou 5%.

O programa Epi InfoTM 7 foi utilizado para a análise.

4.2.2 Considerações éticas

A pesquisa observou as recomendações da Resolução CNS 196/96- Conselho Nacional de Saúde e o protocolo da pesquisa foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Referência e Treinamento DST/AIDS, numero de protocolo CEP 015/2010 (Anexo A).

O autor do estudo se comprometeu a garantir o sigilo e a confidencialidade dos dados obtidos durante a pesquisa e de utilizá-los exclusivamente para os objetivos propostos pelo projeto. O pesquisador assumiu também a responsabilidade de divulgar os resultados da presente pesquisa aos setores interessados, assim como em publicações científicas da área.

5 RESULTADOS

5.1 Seleção da população amostral

O CRT-DST/AIDS iniciou os testes de genotipagem em 2002. Em julho de 2010 existiam 1849 registros de genotipagem, deste total 940 eram pacientes do CRT-DST/AIDS.

Dos 940 pacientes que tiveram a primeira genotipagem realizada no CRT-DST/AIDS, apenas 735 tiveram o laudo de genotipagem resgatado. Dessa população foram excluídos 261 registros, devido a ausência de informação adequada da ficha RENAGENO, incompatibilidade do achado clínico com o período da genotipagem, CD4+ e CV fora do período válido para o estudo. Dentre esses, apenas 190 pacientes possuíam dados sobre a execução de exame intraoral, assim, esta foi a população estudada.

A figura 5.1 ilustra como se deu a formação da população de estudo.

Figura 5.1 - Diagrama da formação da população de estudo dos pacientes que tiveram a genotipagem realizada no CRT-DST/AIDS-DST/AIDS de 2003 a 2010 (N=1849)

5.2 Manifestações orais e dados sociocomportamentais, clínicos e laboratoriais

O grupo estudado era composto majoritariamente pelo sexo masculino (72,4%), as médias de idade, CD4 e CV eram respectivamente 41 anos, 286,39 céls/mm³ e 56.776,22 cópias/ml. O tempo médio passado entre a data do diagnóstico de AIDS e a data da falha terapêutica foi de 7 anos.

Os 190 pacientes possuíam informações nos prontuários que indicavam terem sido submetidos a avaliação intraoral e 81 pacientes (42,63%) apresentaram lesão de boca.

As lesões orais identificadas nos pacientes foram classificadas segundo sua etiologia em fúngicas (n=51; 62,96%), bacterianas (n=12; 14,81%) e virais (n=12; 14,81%). Seis pacientes (7,40%) apresentaram mais de um tipo de lesão.

Cento e quarenta e sete pacientes (77,36%) foram examinados por médicos e 37 (19,47%) por dentistas. Na tabela 5.1 nota-se que, quando o exame intraoral era executado por dentistas ou por médicos e dentistas, era possível identificar uma porcentagem expressivamente maior de lesões orais, quando comparado ao exame executado exclusivamente por médicos. A chance de uma lesão oral ser identificada em um paciente foi 2,9 vezes maior quando examinado por um dentista. Essa chance aumentou para 3,5 caso o paciente fosse examinado por médico e dentista, mas sem que exista significância estatística entre um examinador (dentista) e dois examinadores (médico e dentista).

Tabela 5.1 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e quem examinou, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)

Característica		Presença de Lesão				Total		OR	IC	95%	p
		Sim		Não							
		Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%				
Quem Examinou	Médico	53	36,5	94	63,5	147	100,0				
	Dentista	23	62,2	14	37,8	37	100,0	2,9	1,3	6,1	0,047
	Médico e Dentista	4	66,7	2	33,3	6	100,0	3,5	0,6	20,0	0,136
Total		81	42,4	110	57,6	190	100,0				

Ao relacionar as duas variáveis (presença de lesão oral e quem examinou o paciente) utilizando o teste de *Mann Whitney*, para comparar tendências centrais de duas amostras independentes, nota-se que o exame intraoral realizado por dentistas retornou a identificação de lesões orais em uma proporção significativamente maior que o realizado por médicos ($p=0,003$).

No que se refere a presença de lesão e faixa etária, ocorreu uma maior prevalência de casos entre os pacientes mais jovens (com menos de 40 anos de idade) (Tabela 5.2). Mas esse fato não apresentou significância estatística.

Tabela 5.2 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e faixa etária, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)

Característica		Presença de Lesão				Total		OR	IC 95%		p
		Sim		Não							
		Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%				
Faixa Etária	menor que 24 anos	3	50,0	3	50,0	6	100,0	1,7	0,3	8,6	0,542
	24 a 39 anos	37	47,6	41	52,4	78	100,0	1,5	0,8	2,7	0,169
	40 anos ou mais	41	37,5	65	62,5	106	100,0	1,0			
	Total	81	42,2	109	57,8	190	100,0				

Outro aspecto demográfico avaliado foi o item “cor da pele” que apenas evidenciou uma frequência maior de indivíduos de pele branca, mas sem que esse dado pudesse ser vinculado a presença de lesões orais (Tabela 5.3).

Tabela 5.3 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e cor, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)

Característica		Presença de Lesão				Total		OR	IC 95%		P
		Sim		Não							
		Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%				
Cor/ Raça	Branca	55	43,0	72	57,0	127	100,0	1,1	0,6	2,2	0,672
	Preta/Parda	23	39,7	35	60,3	58	100,0	1,0			
	Outras	2	40,0	3	60,0	5	100,0	1,0	0,2	6,6	0,988
	Total	80	41,9	111	58,1	190	100,0				

Cento e cinquenta e oito pacientes (88,26%) apresentaram a via sexual como principal categoria de exposição, dentre estes, 49,36% eram homo ou bissexuais. A frequência de lesões orais foi levemente maior em pacientes usuários de drogas injetáveis (43,8%), mas essa variável também não apresentou significância estatística (Tabela 5.4).

Tabela 5.4 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e categoria de exposição, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)

Característica	Presença de Lesão				Total		OR	IC 95%	p		
	Sim		Não								
	Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%					
Categ. de risco	Homo/ bissexual	31	39,7	47	60,3	78	100,0				
	Drogas injetáveis	7	43,8	9	56,3	16	100,0	1,2	0,4	3,5	0,767
	Heteros- sexual	34	42,5	46	57,5	80	100,0	1,1	0,6	2,1	0,726
	Perinatal	3	60,0	2	40,0	5	100,0	2,3	0,4	14,7	0,375
Total		75	41,9	104	58,1	179	100,0				

Os exames laboratoriais dos pacientes (CD4 e CV) foram estratificados em faixas. Inicialmente estabeleceu-se o nível de CD4 abaixo de 350, como indicativo de imunossupressão já que esse era o nível sugerido pelo MS para início da TARV, em pacientes HIV+, antes de 2013. Segundo essa estratificação foi possível notar a associação positiva entre a presença de manifestações bucais e contagens de CD4 inferiores a 350 (Tabela 5.5).

Tabela 5.5 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e faixa de CD4, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)

Característica		Presença de Lesão				Total		OR	IC 95%	P	
		Sim		Não							
		Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%				
Faixa de CD4	0 a 349	63	48,5	67	51,5	130	100,0	2,2	1,1	4,3	0,017
	350 e mais	18	30	42	70	60	100,0	1,0			
	Total	81	42,6	109	57,4	190	100,0				

Aplicando-se nova estratificação, subdividindo o nível de CD4 em que o paciente apresentou chance maior de presença de lesões bucais ($< 350 \text{ céls/mm}^3$) em menor que 200 céls/mm^3 e de 200 a 350 céls/mm^3 , verifica-se que 51,9% dos pacientes encontrava-se em um nível de CD4 abaixo de 200 céls/mm^3 . A maior prevalência de lesões nesse grupo de pacientes também se mostrou significativa estatisticamente ($p=0,04$), frente aos outros dois níveis estabelecidos.

Quanto a CV, foi possível identificar uma chance 2,3 vezes maior de pacientes apresentarem lesões bucais quando se encontram com CV entre 50.000 e 100.00 cópias/ml (Tabela 5.6).

Tabela 5.6 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e faixa de carga viral, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)

Característica		Presença de Lesão				Total		OR	IC 95%	P
		Sim		Não						
		Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%			
Faixa de Carga Viral	menos que 50.000	48	37,5	80	62,5	128	100,0	1,0		
	50.000 a 99.000	16	53,3	14	46,7	30	100,0	2,3	1,0	5,2
	100.000 e mais	17	53,1	15	49,9	32	100,0	2,0	0,9	4,4
Total		81	42,6	109	57,4	190	100,0			

Os pacientes haviam sido submetidos em média a quatro esquemas ARVs antes de executar a genotipagem. Mas os pacientes que utilizaram cinco ou mais esquemas ARVs tinham uma chance 2,2 vezes maior de apresentarem lesões orais que os pacientes que utilizaram menos esquemas (Tabela 5.7).

Tabela 5.7 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e número de esquemas ARV, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)

Característica		Presença de Lesão				Total		OR	IC 95%	P
		Sim		Não						
		Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%			
Número de esquemas ARV	1 a 4	44	35,8	78	64,2	122	100,0	1,0		
	5 ou mais	36	52,9	32	47,1	68	100,0	2,0	1,1	3,7
Total		80	41,9	110	58,1	190	100,0			0,021

5.3 Manifestações orais e genotipagem: subtipos virais, mutações na TR e PR, resistência a ARVs e drogas ativas

A identificação das mutações presentes na TR e PR gerou uma extensa lista de associações que pode ser consultada nos apêndices A,B e

A interpretação dessas associações pode ser executada através do *software* de interpretação brasileira de genotipagem para o HIV. A primeira informação que o *software* fornece é o subtipo viral. Segundo as informações fornecidas na página *web* do algoritmo brasileiro, a partir de 2009 o *software* tornou possível liberar os laudos de resistência com subtipagem. Para tanto, é necessário, além do arquivo.gt ou .csv adicionar o arquivo FASTA ao programa, conforme instruções da página. O subtipo sairá impresso no laudo da RENAGENO.

Com relação às informações de subtipos virais do HIV, apenas 97 (51,05%) dos 190 laudos de genotipagem apresentaram o subtipo viral descrito, dentre esses,

a grande maioria dos pacientes possuía o subtipo B (87,62%), mas também foram identificados os subtipos BF1 (8,24%), BC (1,03%) e F1 (3,09%).

Entre os pacientes que apresentaram lesões orais (n=81) apenas 45 (55,55%) possuíam o subtipo viral descrito no laudo da genotipagem, sendo que 40 (88,90%) apresentavam o subtipo B, três (6,70%) o subtipo BF1 e dois (4,40%) o subtipo F1. Com quantidades muito pequenas de indivíduos em cada subtipo não foi possível executar análise estatística ou avaliar a associação entre subtipo viral e tipo de lesões orais.

Seguem, ao subtipo viral, informações sobre a presença de mutações na PR e na TR. Todos os pacientes apresentavam mutações, 182 (95,78%) na TR e 188 (98,94%) na PR. O alto número de mutações encontrado era previsível e, conseqüentemente, a falta de associação entre a presença de mutações e lesões orais (Tabela 5.8 e 5.9).

Tabela 5.8 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e mutação na transcriptase, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)

Característica		Presença de Lesão				Total		OR	IC 95%		p
		Sim		Não							
		Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%				
Mutação na transcriptase	sim	77	42,3	105	57,7	182	100,0	1,1	0,3	4,2	0,899
	não	4	44,4	5	55,6	9	100,0	1,0			
Total		81	42,4	110	57,6	191		100,0			

Tabela 5.9 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e mutação na protease, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)

Característica		Presença de Lesão				Total		OR	IC 95%		P
		Sim		Não							
		Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%				
Mutação na Protease	sim	80	42,6	108	57,4	188	100,0	1,5	0,1	16,7	0,749
	não	1	33,3	2	66,7	3	100,0				
Total		81	42,4	110	57,6	191	100,0				

Mas como a presença de mutações nem sempre confere resistência às drogas, foram executadas novas avaliações. A resistência a ITRN foi a mais prevalente, contabilizada em 164 (86,31%) pacientes, seguida da resistência ITRNN (n=123; 64,73%) e a IP (n=100; 52,63%). Apenas 10 pacientes (5,26%) não apresentavam resistência a nenhuma das classes de ARV e 54 (28,42%) apresentavam resistência a todas as classes de ARV.

As lesões orais estavam presentes em 43% dos pacientes que apresentaram resistência a ITRN, 41,9% dos que apresentavam resistência a ITRNN e 38% dos que apresentavam resistência a IP. Mas o cruzamento da presença de resistência a ITRN, ITRNN e IP com a presença de manifestações bucais tampouco se apresentou estatisticamente significativa (Tabelas 5.10, 5.11 e 5.12).

Tabela 5.10 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e resistência a ITRN, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)

Característica		Presença de Lesão				Total		OR	IC 95%		p
		Sim		Não							
		Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%				
Resistência a ITRN	sim	71	43,0	93	57,0	164	100,0	1,2	0,5	2,8	0,662
	não	10	38,5	16	61,5	26	100,0				
Total		81	42,4	109	57,6	190	100,0				

Tabela 5.11 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e resistência a ITRNN, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)

Característica		Presença de Lesão				Total		OR	IC 95%	P
		Sim		Não						
		Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%			
Resistência a ITRNN	sim	52	41,9	71	58,1	123	100,0			
	não	29	43,3	38	56,7	67	100,0	1,1	0,6	1,9
Total		81	42,4	109	57,6	190	100,0			

Tabela 5.12 - Características dos pacientes examinados segundo a presença de lesão e resistência ao IP, *odds ratio* (OR) e intervalo de confiança (IC)

Característica		Presença de Lesão				Total		OR	IC 95%		P
		Sim		Não							
		Freq.	%	Freq.	%	Freq.	%				
Resistência a IP	sim	38	38,0	62	62,0	100	100,0				
	não	43	47,3	47	52,7	90	100,0	1,5	0,8	2,6	0,197
Total		81	42,4	109	57,6	190	100,0				

Foram executadas análises estatísticas para averiguar se o tipo de lesão (fúngica, bacteriana ou viral) poderia estar relacionado a resistência aos ARVs (ITRNs, ITRNNs, IPs). O teste de *Kruskal Wallis* foi utilizado para testar a hipótese nula de que todas as populações possuem funções de distribuição iguais contra a hipótese alternativa de que ao menos duas das populações possuem funções de distribuição diferentes. O resultado significativo associando a presença de resistência a IPs com o tipo de lesão oral encontrada indica que pelo menos uma das amostras é diferente das restantes. Verifica-se que há uma prevalência maior de lesões virais (75%) e bacterianas (66,7%) do que de lesões fúngicas (37,3%) em pacientes que apresentam resistência a IP ($p=0,02$) (Tabela 5.13). Não foram encontrados resultados significativos quando foram relacionados os ITRNs ($p=0,68$) e os ITRNNs (0,66) com o tipo de lesões orais presentes.

Tabela 5.13 – Correlação entre a presença de resistência a IPs e os tipos de manifestações orais

Resistência a IP	Tipo de lesão				p*
	Fúngica	Viral	Bacteriana	TOTAL	
Não	32	3	4	39	0,02
Linha %	82,1	7,7	10,3	100,0	
Coluna %	62,7	25,0	33,3	52,0	
Sim	19	9	8	36	
Linha %	52,8	25,0	22,2	100,0	
Coluna %	37,3	75,0	66,7	48,0	
TOTAL	51	12	12	75	
Linha %	68,0	16,0	16,0	100,0	
Coluna %	100,0	100,0	100,0	100,0	

* Kruskal Wallis

Como o teste de *Kruskal Wallis* não identifica onde ocorrem e quantas são as diferenças, as variáveis foram agrupadas duas a duas e avaliadas com o teste de *Mann Whitney*.

Verifica-se que as lesões virais apresentam-se estatisticamente mais associadas a resistência a IPs do que as lesões bacterianas quando comparadas às lesões fúngicas (Tabela 5.14).

Tabela 5.14 – Comparação entre os tipos de lesões e a resistência a IPs

Tipo de Lesão								
Resistência a IP	Fúngicas	Virais	Total	p*	Fúngicas	Bacterianas	Total	p*
Sem	32	3	35	0,01	32	4	36	0,06
Linha %	91,4	8,6	100,0		88,9	11,1	100,0	
Coluna %	62,7	25,0	55,6		62,7	33,3	57,1	
Com	19	9	28		19	8	27	
Linha %	67,9	32,1	100,0		70,4	29,6	100,0	
Coluna %	37,3	75,0	44,4		37,3	66,7	42,9	
Total	51	12	63		51	12	63	
Linha %	81,0	19,0	100,0		81,0	19,0	100,0	
Coluna %	100,0	100,0	100,0		100,0	100,0	100,0	

*Mann Whitney

Finalmente, foram contabilizadas as drogas que permaneciam ativas para os pacientes estudados. Os pacientes que se apresentavam sem lesões orais possuíam um maior número de drogas ativas do que os pacientes que se apresentavam com lesões orais, mas essa diferença não se mostrou estatisticamente significativa (Tabela 5.15).

Tabela 5.15 – Número de drogas ativas em pacientes com e sem lesão oral

Número de drogas ativas							p*
Presença de lesão	0	1	2	3	4	TOTAL	
Sem	36	44	16	11	2	109	0,51
Linha %	33,0	40,4	14,7	10,1	1,8	100,0	
Coluna %	52,2	65,7	59,3	50,0	66,7	58,0	
Com	33	23	11	11	1	79	
Linha %	41,8	29,1	13,9	13,9	1,3	100,0	
Coluna %	47,8	34,3	40,7	50,0	33,3	42,0	
TOTAL	69	67	27	22	3	188	
Linha %	36,7	35,6	14,4	11,7	1,6	100,0	
Coluna %	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	

*Kruskal Wallis

5.4 Lesões orais e análise dos códons de mutações da TR e PR

Foram encontrados 182 tipos diferentes de mutações entre os 190 pacientes avaliados. Dentre os que apresentavam lesões orais não foram encontrados 26 tipos. As listas das mutações encontradas em cada paciente estão no apêndice A (pacientes sem lesão) e no apêndice B (pacientes com lesão).

As mutações foram avaliadas individualmente segundo a presença de lesão oral e as que apresentaram significância estatística foram dispostas na tabela 5.16. As mutações estão expressas apenas com o número que representa sua posição e a letra referente ao aminoácido de substituição, ou seja, sem o aminoácido que antecede a posição, já que esse representa a referência conhecida (presente no vírus selvagem). É possível verificar que um grupo dessas mutações apresentou

correlação negativa com a presença de lesões orais (101E, 20T, 188L, 93L) e outro grupo apresentou correlação positiva (215Y, 118I, 20R, 44D, 71I, 82I E 84V) (Tabela 5.16).

Tabela 5.16 – Mutações que apresentaram diferenças estatisticamente significantes segundo a presença de manifestação oral

Mutações (ARV associado)	COM LESÃO N=81 (%)	SEM LESÃO N=109 (%)	P
101E (ITRNN)	0 (0)	8 (7,27)	0,01*
20T (IP)	0 (0)	8 (7,27)	0,01*
188L (ITRNN)	1 (1,23)	9 (8,18)	0,03*
93L (IP)	19 (23,45)	41 (37,27)	0,03**
215Y (ITRN)	36 (44,44)	33 (30)	0,04**
118I (ITRN)	16 (19,75)	11 (10)	0,05**
20R (IP)	18 (22,22)	12 (10,90)	0,03**
44D (ITRN)	13 (16,04)	6 (5,45)	0,01**
71I (IP)	4 (4,93)	0 (0)	0,01*
82I (IP)	3 (3,70)	0 (0)	0,04*
84V (IP)	11 (13,58)	1 (0,90)	0,0004*

*Teste exato de Fisher; **Qui quadrado

Subsequentemente, as mutações que apresentaram correlação positiva com a presença de lesões orais foram avaliadas para verificar se sua presença estaria realmente associada a resistência aos ARVs (aos quais seriam supostamente resistentes). Foram excluídas dessa avaliação as mutações 71I e 82I por apresentarem uma quantidade extremamente pequena de ocorrências. Todas as mutações apresentaram correlação estatística positiva para a resistência aos respectivos ARVs (Tabela 5.17). Encontrou-se também aumento significativo da chance de um paciente portador da mutação apresentar resistência ao ARV específico (Tabela 5.17).

Tabela 5.17 – Significância estatística entre as mutações que se apresentaram positivamente correlacionadas a presença de lesão oral e a identificação de resistência a drogas

Mutações	RESISTÊNCIA								
	ITRN			ITRNN			IP		
	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P	OR	IC 95%	P
215Y (ITRN)	17,70	2,34 133,86	0,0002	1,10	0,59 2,05	0,75	1,40	0,77 2,54	0,26
84V (IP)	INDEF	INDEF	0,16*	1,06	0,30 3,69	0,59*	4,88	1,04 22,95	0,02*
20R (IP)	5,37	0,69 41,24	0,05*	0,90	0,40 2,03	0,80	5,66	2,06 15,54	0,0002
44D (ITRN)	INDEF	INDEF	0,05*	0,70	0,26 1,85	0,47	2,09	0,75 5,75	0,14
118I (ITRN)	4,71	0,61 36,30	0,04	0,61	0,27 1,41	0,25	1,97	0,83 4,65	0,11

ITRN – Inibidores da transcriptase reversa nucleosídeos, ITRNN – Inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeos, IP – Inibidores da protease, OR – Odds Ratio, IC – Intervalo de confiança, *Teste exato de Fisher

Mutações específicas e que resultam em resistência específica a regimes contendo AZT, denominadas de mutações dos análogos da timidina (TAM), foram avaliadas segundo a presença de lesões orais. Apenas uma das mutações relacionadas a TAM1 (215Y) apresentou-se positivamente correlacionada a presença de lesões orais ($p=0,04$). Ainda assim, nota-se que, de forma geral, as TAM1 (215Y, 41L, 210W) apresentam-se mais prevalentes em pacientes com lesões orais (Figura 5.2) e as TAM2 (67N, 70R, 219Q, 215F, 219E) mais prevalentes em pacientes sem lesões orais (Figura 5.3).

Figura 5.2 – Pacientes que apresentaram mutações análogas da timidina - TAM1

Figura 5.3 – Pacientes que apresentaram mutações análogas da timidina – TAM2

Dentre os 12 pacientes que apresentaram lesões orais bacterianas foram encontradas 158 mutações, sendo 68 mutações tipos diferentes. A média de mutações apresentada pelo grupo era de 13,16 mutações a cada paciente e de 5,6 tipos de mutações diferentes.

Em pacientes com lesões fúngicas, as mutações ocorreram em 51 pacientes e contabilizaram 699, sendo 146 tipos diferentes. Em média ocorreram 12,26 mutações por paciente, sendo 2,5 tipos diferentes.

O grupo de pacientes que apresentava lesões virais apresentou 155 mutações, sendo 70 tipos diferentes. A média de mutações foi de 12,91 e a de tipos diferentes 5,8.

No apêndice C encontra-se a lista completa de prevalência de mutações segundo o tipo de lesão oral encontrada.

6 DISCUSSÃO

O CRT/DST-AIDS é uma unidade hospitalar e ambulatorial de referência normativa, de avaliação e de coordenação do Programa Estadual para Prevenção, Controle, Diagnóstico e Tratamento de Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) e da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) no Estado de São Paulo (SP). A relevância e a importância do trabalho executado ampliaram suas finalidades, que hoje se estendem além da coordenação do Programa Estadual de DST/AIDS-SP. O CRT-DST/AIDS elabora e implanta normas relativas às DST/AIDS, no âmbito do sistema único de saúde (SUS), elabora propostas de prevenção, presta assistência médico-hospitalar, ambulatorial e domiciliar a pacientes com DST/AIDS, propõe e executa ações de vigilância epidemiológica e controle das DST/AIDS, desenvolve programas de formação, treinamento e aperfeiçoamento, como também desenvolve e apoia pesquisa científica em seu campo de atuação e promove o intercâmbio técnico-científico com outras instituições nacionais e internacionais (CRT/DST-AIDS, 2013).

Diversas pesquisas epidemiológicas, assim como a presente pesquisa, são executadas no Centro, que pode recuperar dados, lançando mão de bancos informatizados desenvolvidos e geridos pela Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo. É notável que a informatização de dados incrementou sensivelmente a acuidade e rapidez das pesquisas, mas ainda existem diversas informações que não são armazenadas digitalmente. A dificuldade de armazenar e recuperar arquivos em papel foi um dos principais entraves encontrados no desenvolvimento deste trabalho.

Os materiais de arquivos são importantes fontes de estudo e a otimização do armazenamento e gerenciamento dessas informações segue sendo um desafio para pesquisadores e clínicos.

Outro ponto que fragilizou a desenvolvimento deste trabalho foi a pouca informação, armazenada em prontuários, quanto aos exames bucais dos pacientes. Dentre os 474 pacientes selecionados através dos bancos de dados consultados, apenas 190 possuíam exames intraorais. Mas o fato que parece ser o maior

complicador é que, a maioria destes exames foi realizada por médicos (77,36%) que demonstraram, estatisticamente, uma probabilidade de identificação de lesões muito inferior a dos dentistas.

Assim, também poderia causar estranheza o fato de que em uma população de pacientes HIV+, que estavam vivenciando falha terapêutica, apenas 42,63% apresentassem manifestações orais. Mas ao se verificar a contagem média de CD4 dessa população (286,39 céls/mm³) constata-se que a deficiência imunológica não se apresenta em níveis tão baixos que se possa esperar uma prevalência maior de manifestações orais oportunistas. Em realidade, a faixa de prevalência de lesões orais encontrada na população estudada encontra-se dentro dos mesmos níveis identificados previamente por outros pesquisadores. Em pacientes sob TARV, níveis de CD4 inferiores a 200 céls/mm³ estariam associados a prevalências superiores a 60% enquanto que níveis intermediários de CD4 (>200 céls/mm³ e <500 céls/mm³) corresponderiam a prevalências inferiores a 50% (Ceballos Salobreña et al., 1996; Anil; Challacombe, 1997; Hodgson, 1997; Schmidt-Westhausen et al., 1997; Jonsson et al., 1998; Patton et al., 1998; Arendorf; Holmes, 2000; Ortega et al., 2009a e b Annapurna et al., 2012).

A prevalência de lesões orais dentro de uma faixa de contagem de CD4 previamente estabelecida pela literatura e a correlação positiva entre a presença de manifestações orais e baixas taxas de CD4 ($p < 0,05$) encontradas no presente estudo, apontam para uma validação dos diagnósticos frente aos dados encontrados em estudos anteriores (Glick et al., 1994; Begg et al., 1996; Begg et al., 1997; Greenspan, 1997; Patton, 2000; Santos et al., 2001; Kerdpon et al., 2004; Ramírez-Amador et al., 2005; Butt et al., 2007; Davoodi et al., 2010; Bodhade et al., 2011; Gaurav et al., 2011; Sontakke et al., 2011).

O outro parâmetro laboratorial avaliado foi a CV que apresentou correlação estatisticamente significativa apenas para pacientes que apresentassem CV entre 50.000 e 99.000 cópias. Talvez o esperado fosse encontrar maior prevalência de lesões orais quanto maior estivesse a CV dos pacientes, mas isto não ocorreu nos pacientes que apresentavam CV maior que 100.000, ainda que os mesmos tivessem uma chance duas vezes maior de lesões orais do que pacientes com carga viral menor. A literatura também apresenta controvérsias quanto a essa possível

associação. Apenas a candidíase e a LP puderam ser associadas a níveis mais altos de CV, mas o mesmo não ocorreu com outras manifestações bucais (Greenspan et al., 2000; Ramírez-Amador et al., 2005).

As outras características (sociocomportamentais) avaliadas, previsivelmente, não apresentaram correlações positivas com a presença de lesões orais.

No início da epidemia de HIV/AIDS, quando começaram a ser identificadas manifestações orais relacionadas a imunodepressão causada pelo HIV, pesquisadores buscaram correlacionar essas manifestações a características sociocomportamentais, além das características clínico laboratoriais. Alguns trabalhos relataram prevalências diferentes de manifestações bucais em decorrência do sexo (Patton et al., 1998; Ramírez-Amador et al., 1998; Greenspan et al., 2000; Campisi et al., 2001), idade (Gaitán-Cepeda et al., 2002), categoria de exposição ao HIV (Barone et al., 1990; Moniaci et al., 1990; Feigal et al., 1991; Lamster et al., 1994; Ceballos-Salobreña et al., 1996), mas deixaram de considerar que a epidemia, até aquele ponto, era mais prevalente em homens adultos e que faziam sexo com homens (HSH). Quando a epidemiologia atual da infecção pelo HIV é levada em consideração, conclui-se que a prevalência de lesões orais não possui relação com idade, gênero ou categoria de exposição dos pacientes (Watanuki, 2010).

Ainda que sejam interessantes avaliações sociocomportamentais e clínico laboratoriais, o ponto central da pesquisa é identificar uma possível correlação entre a presença de manifestações orais da AIDS e as características genotípicas do HIV.

A expressiva ausência de informação (49%) sobre o subtipo viral dos pacientes que se submeteram a genotipagem tornou inviável a avaliação de correlação entre essa variável e a presença de manifestações orais. Mas, entre os laudos que incluíam essa informação, foi possível notar que o subtipo B apresentou-se com uma prevalência próxima de 90%. Esse fato colabora com a avaliação das mutações de resistência, já que os algoritmos utilizados para interpretação foram construídos com base no subtipo B, que é o mais prevalente no Brasil, nos EUA e na Europa ocidental. Apesar de esse subtipo ser o mais prevalente em nosso país, tem sido identificado aumento de subtipos não-B, particularmente entre homens heterossexuais (Pimentel et al., 2013; Prellwitz et al., 2013). Como subtipos específicos já foram vinculados a maior prevalência de doenças clínicas (Liner et al.,

2007; Sacktor et al., 2007; Sacktor et al., 2009; Boivin et al., 2010;) e outros a uma perda mais acelerada de células T CD4+ (Sundaravaradan et al., 2007; Easterbrook et al., 2010; Ng et al., 2011; Sucupira et al., 2012; Bizinoto et al., 2013; Sucupira et al., 2013; Tarosso et al., 2013), ganha força a possibilidade de encontrar associação positiva com as manifestações bucais da AIDS, particularmente porque estas possuem um forte vínculo com os níveis de CD4 circulantes.

As análises filogenéticas dos genes *gag* e *env* resultam na classificação dos subtipos enquanto a análise do gene *pol* identifica as mutações na PR e TR.

A simples presença de mutação na TR e na PR não encontrou associação estatística com a presença de lesões orais. Esse fato era esperado, uma vez que os pacientes que se submetem a genotipagem, o fazem por apresentarem falha terapêutica, ou seja, a grande maioria desses pacientes fatalmente apresentará alguma mutação na PR ou na TR que esteja relacionada com a diminuição de suscetibilidade aos ARVs. Esse fato foi corroborado pela constatação de que apenas 10 (5,26%) pacientes não apresentavam resistência a qualquer das classes de ARVs.

Ao serem cruzadas informações sobre a resistência as diferentes classes de ARVs (ITRNs, ITRNNs e IPs) e o tipo de lesões orais, apenas a resistência aos IPs pode ser associada a uma maior quantidade de lesões bacterianas e virais.

As lesões fúngicas eram as mais prevalentes nos pacientes que apresentavam lesões orais, mas não encontraram correlação significativa com a resistência aos IPs. Talvez porque, sabidamente, a candidíase seja a lesão fúngica mais prevalente em pacientes com HIV/AIDS e sendo essa doença multifatorial, pode estar vinculada não só a deficiência imune, mas também a características locais, como a diminuição do fluxo salivar, alteração da composição do fluxo salivar e ao uso de próteses dentais removíveis (Guggenheimer; Moore, 2003). Pacientes HIV+ apresentam níveis de fluxo salivar menores, quando comparados à população HIV- e essa diminuição está associada a idade mais avançada (maior que 50 anos de idade), a presença de comorbidades (hipertensão, diabetes) e ao uso de drogas ilícitas (Navazesh et al., 2000).

O diferente impacto que os dois principais esquemas de TARV (com IPs e com ITRNNs) podem causar sobre a prevalência de manifestações orais foi avaliado por Ortega e colaboradores em 2009. Os autores concluíram que pacientes que utilizavam esquemas com IPs apresentavam um risco maior de manifestações bucais, quando comparados aos pacientes em uso de ITRNNs (Ortega et al., 2009a e b). Mas este é o único trabalho publicado avaliando a eficácia dos diferentes regimes ARVs relacionada a presença de manifestações bucais. De qualquer modo, a superioridade de regimes contendo ITRNNs no controle da infecção pelo HIV é bem conhecida (Fethi et al., 2005; Bartlett et al., 2006) e reflete-se na recomendação (internacional e nacional) de que a TARV seja iniciada com regimes que incluam essa classe de ARVs (Yeni et al., 2004, Brasil, 2013).

A fragilidade dos IPs frente aos ITRNNs também pode ser evidenciada pela presença de mutações estatisticamente relacionadas a presença de lesões orais (Tabela 5.16). As mutações que foram associadas positivamente a presença dessas lesões eram mutações relativas aos IPs e aos ITRNs (215Y, 118I, 20R, 44D, 71I, 82I, 84V). Os ITRNs foram a primeira classe de drogas desenvolvidas para inibir a replicação do HIV e são utilizados em todos os esquemas ARVs. É natural que, com um maior tempo de utilização, estejam envolvidos indelevelmente com mutações do vírus para recuperar o *fitness*. Já os IPs tem sido preferidos em terapias de resgate, talvez porque contabilizem uma quantidade muito maior de mutações associadas a resistência do que os ITRNNs (Johnson et al., 2013). Por outro lado, na mesma (Tabela 5.16) também podem ser vistas mutações nos ITRNNs (101E e 188L), mas estas se correlacionam negativamente com a presença de lesões orais. Este resultado levanta a hipótese de que essas mutações poderiam representar fatores de proteção contra a instalação de lesões orais.

As mutações que se correlacionaram positivamente com a presença de lesões orais foram as 215Y, 118I e 44D na TR e as 20R, 71I, 82I e 84V na PR. A quantidade de mutações 71I e 82I foram quatro e três respectivamente; um número muito pequeno para avaliar o significado clínico dessa associação matemática positiva.

As mutações 215Y, 118I e 44D são bem conhecidas e estão entre as mutações definidas como mutações análogas dos nucleosídeos (NAMs - nucleoside

analogous mutations) porque afetam a eficiência de todos os ITRNs (Whitcombe et al., 2002a; Medeiros et al., 2007). Dois diferentes padrões de NAMs foram identificados, o primeiro, composto pelas mutações 44D, 41L, 118I, 210W e 215Y, causa altos níveis de resistência a todos os ITRNs; o segundo, composto por 67N, 70R, 219QE e 215F, possui apenas um efeito leve na suscetibilidade a alguns ITRNs (Stoeckli et al., 2002; Hertogs et al., 2000; Saracino et al., 2006). Um subgrupo das NAMs, que são selecionados pelos análogos da timidina, são as TAMs que também podem ser subdivididas em TAM1 (215Y, 41L, 210W) e TAM2 (67N, 70R, 219Q, 215F E 219E). A TAM1 é mais prevalente e confere um grau maior de resistência aos análogos da timidina (Betancor et al., 2012).

No presente estudo as mutações na TR que puderam ser associadas a presença de lesões orais foram justamente as que representam, segundo a literatura, altos níveis de resistência aos ITRNs. Também se salienta a prevalência maior de TAM1 em pacientes com lesões orais, enquanto que a TAM2 era mais prevalente em pacientes sem lesão oral (Figuras 5.2 e 5.3). Associado a esses fatos está a identificação de que a presença dessas mutações pode ser estatisticamente vinculada a uma suscetibilidade aumentada aos ITRNs (Tabela 5.17). Com estes resultados é possível acreditar em uma relação entre a presença de lesões orais e mutações específicas na TR (que reflitam diminuição na suscetibilidade aos ITRNs). Ainda que estudos transversais não tenham o poder de avaliar causa e efeito, é plausível imaginar que a mutação apresentada na TR levou a diminuição do efeito dos ITRNs e que, com a eficiência da medicação comprometida, os pacientes apresentaram aumento de sua carga viral e diminuição da imunidade circulante, fato que levou ao aparecimento de lesões orais. Essa presunção também abre campo para investigar, através de estudos prospectivos e longitudinais, se lesões orais poderiam funcionar como indicadores de alerta precoce (EWIs) para identificar mutações importantes, como a 215Y ou a 118I, antes que se apresentassem expressivas modificações na carga viral e no CD4 dos pacientes.

A identificação de lesões orais em pacientes HIV+ tem sido utilizada como recurso para diversas pesquisas. Os trabalhos publicados têm vinculado repetidamente a presença de algumas lesões com a falha terapêutica e virológica dos pacientes (Ramírez-Amador et al., 1996; Begg et al., 1997; Patton, 2000). A LP e a candidíase oral tem sido as lesões mais citadas como preditoras dessas falhas

(Ramírez-Amador et al., 1996; Ramírez-Amador et al., 2005; Ramirez-Amador et al., 2007). É provável que, dentre essas duas doenças, a LP seja a melhor escolha para ser utilizada como variável dependente em uma análise genotípica do HIV. A presença da LP não está sujeita a variações locais da cavidade oral e a fisiopatologia do vírus Epstein Barr (EBV) em pacientes HIV+ ainda não está esclarecida. Sabe-se que, apesar de ser a segunda lesão oral mais prevalente em pacientes HIV+ e de vários autores vincularem-na com baixas contagens de CD4 (Ramirez-Amador et al., 1996; Begg et al., 1997; Patton et al., 2000), não são todos os pacientes com essas condições que apresentam a lesão. Em realidade, um estudo recente identificou que a presença da LP estava diretamente relacionada a alta contagem de EBV na saliva, e que esta, por sua vez, relacionava-se a alta carga viral do HIV no sangue. Mas a carga viral do EBV não pode ser relacionada a contagem de CD4 do paciente (Rosseto, 2010). Esse dado não é surpreendente, já que se demonstrou previamente que, em pacientes que apresentavam mais de 10 anos de infecção, não é possível correlacionar o aparecimento de lesões orais e o decréscimo de linfócitos T CD4+ (Sroussi et al., 2006). Segundo Sroussi et al. (2006), isso se deve, provavelmente, a uma reconstituição imune incompleta relacionada a HAART, na qual seria encontrado um aumento na quantidade de linfócitos T, mas a qualidade dessas células estaria comprometida (Lange et al., 2002).

Esse fenômeno começou a ser identificado anos após o uso maciço da HAART. Seria possível que a pressão seletiva, induzida pelo uso de ARVs, fosse responsável por modificações no vírus, as quais induziriam uma resposta imune diferente no hospedeiro, levando-o a deixar de produzir linfócitos T CD4+ responsivos contra infecções (do próprio HIV e outras oportunistas)? Caso essa hipótese fosse verdadeira, poderíamos ter uma relação indireta de causa e efeito entre as mutações encontradas no vírus e as manifestações oportunistas.

As mutações na TR são as mais investigadas e as que são mais bem conhecidas. Alguns estudos demonstram que a presença de certas mutações, como a 118I, independente da presença de outras, seriam suficientes para determinar um curso clínico diferente na infecção causada pelo HIV (Zaccarelli et al., 2007).

Mas as mutações presentes na PR também começam a ser mais bem investigadas. A mutação 84V, que no presente estudo mostrou-se relacionada com a presença de lesões orais, faz parte de um rol de mutações associadas com a presença de resistência a vários IPs. Essas mutações (33W/F, 82A/F/L/T, 84V e 90M) são chamadas de “mutações associadas a resistência a inibidores de protease” (PRAMs - protease inhibitor resistance-associated mutations) (Medeiros et al., 2007).

A mutação 20R que também foi encontrada associada a presença de lesões orais, não é descrita entre as PRAMs, mas está listada entre as mutações secundárias da PR (Han et al., 2007). Alguns autores descrevem essa mutação como mais prevalente em subtipos não B (Pieniazek et al., 2000; de Felipe et al., 2011). Recentemente, Santos e colaboradores (2012) identificaram a 20R entre as mutações que estariam superexpressas em pacientes que apresentam falha ao lopinavir/ritonavir (Santos et al., 2012).

Além dessas duas mutações, foram encontradas outras duas que se correlacionaram com a presença de lesões orais, a 71I e a 82I. As mutações 20R e 84V, além de apresentarem-se estatisticamente relacionadas a presença de lesões orais, também demonstraram estar correlacionadas a presença de resistência aos IPs.

Em uma análise conjunta das mutações encontradas é possível verificar que somente associaram-se a presença de lesões orais mutações que representavam resistência a ITRNs e a IPs. Nenhuma das mutações referentes aos ITRNNs pode ser vinculada a presença de lesões orais. Este fato talvez corrobore o dado apresentado por Ortega e colaboradores (2009^a e b), que verificaram uma presença maior de lesões orais em pacientes utilizando esquemas ARVs que continham IPs, quando comparados a pacientes sob esquemas com ITRNNs.

O fato é que as pesquisas têm evoluído e mostrado mudanças significativas acerca da interpretação clínica da presença de cada nova mutação identificada (Schmidt et al., 2000; Parkin et al., 2003).

Sabe-se também que, apesar de algumas mutações terem sido identificadas como fatores independentes para a presença de alterações clínicas, o HIV pode

apresentar concomitantemente outras mutações que recuperariam o *fitness*. Portanto, parece que a avaliação do conjunto de mutações presentes em pacientes com lesões orais específicas (por exemplo, a LP), concorreria para aclarar melhor esse cenário. Para tanto, o ideal seria que pesquisadores experientes no diagnóstico de lesões orais seguissem um grupo maior de pacientes por um período de tempo e que, ao serem identificadas lesões orais, os pacientes fossem submetidos a genotipagem. O resultado poderia ser analisado, então, através de um modelo matemático, similar aos algoritmos desenvolvidos para guiar a troca de medicações.

Este trabalho pode representar, por fim, um ponto inicial e uma nova perspectiva de avaliação de pacientes com AIDS.

7 CONCLUSÃO

Em pacientes HIV+, que apresentavam falha terapêutica e manifestações orais, foram identificadas as mutações 84V e 20R na PR e as mutações 215Y, 44D e 118I na TR e a presença dessas mutações foi associada a resistência a inibidores de protease e inibidores de transcriptase reversa nucleosídeos, respectivamente.

REFERÊNCIAS³

Ammaranond P, Sanguansittianan S. Mechanism of HIV antiretroviral drugs progress toward drug resistance. *Fundam Clin Pharmacol*. 2012 Feb;26(1):146-61.

Anil S, Challacombe SJ. Oral lesions of HIV and AIDS in Asia: an overview. *Oral Dis*. 1997 May;3 Suppl 1:S36-40.

Annapurna CS, Prince CN, Sivaraj S, Ali IM. Oral manifestations of HIV patients in South Indian population. *J Pharm Bioallied Sci*. 2012 Aug;4(Suppl 2):S364-8.

Arendorf T, Holmes H. Oral manifestations associated with human immunodeficiency virus (HIV) infection in developing countries--are there differences from developed countries? *Oral Dis*. 2000 May;6(3):133-5.

Bachelor LT, Anton ED, Kudish P, Baker D, Bunville J, Krakowski K, Bolling L, Aujay M, Wang XV, Ellis D, Becker MF, Lasut AL, George HJ, Spalding DR, Hollis G, Abremski K. Human immunodeficiency virus type 1 mutations selected in patients failing efavirenz combination therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000 Sep;44(9):2475-84.

Barbiker A, Darby S, Darbyshire J, Pezzotti P, Porter K, Rezza G, Walker AS. Changes over calendar time in the risk of specific first AIDS-defining events following HIV seroconversion, adjusting for competing risks. In CASCADE Collaboration Concerted Action on Seroconversion to AIDS and death in Europe. *Lancet*. 2000;355:1131-7.

Barone R, Ficarra G, Gaglioti D, Orsi A, Mazzota F. Prevalence of oral lesions among HIV-infected intravenous drug abusers and other risk groups. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1990 Feb;69(2):169-73.

³ De acordo com Estilo Vancouver.

Bartlett JA, Fath MJ, Demasi R, Hermes A, Quinn J, Mondou E, Rousseau F. An updated systematic overview of triple combination therapy in antiretroviral-naïve HIV-infected adults. *AIDS*. 2006 Oct 24;20(16):2051-64.

Basavapathruni A, Vingerhoets J, de Béthune MP, Chung R, Bailey CM, Kim J, Anderson KS. Modulation of human immunodeficiency virus type 1 synergistic inhibition by reverse transcriptase mutations. *Biochemistry*. 2006 Jun 13;45(23):7334-40.

Begg MD, Lamster IB, Panageas KS, Mitchell-Lewis D, Phelan JA, Grbic JT. A prospective study of oral lesions and their predictive value for progression of HIV disease. *Oral Dis*. 1997 Sep;3(3):176-83.

Begg MD, Panageas KS, Mitchell-Lewis D, Bucklan RS, Phelan JA, Lamster IB. Oral lesions as markers of severe immunosuppression in HIV-infected homosexual men and injection drug users. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1996 Sep;82(3):276-83.

Bennett DE, Bertagnolio S, Sutherland D, Gilks CF. The World Health Organization's global strategy for prevention and assessment of HIV drug resistance. *Antivir Ther*. 2008;13 Suppl 2:1-13.

Bennett DE, Jordan MR, Bertagnolio S, Hong SY, Ravasi G, McMahon JH, Saadani A, Kelley KF. HIV drug resistance early warning indicators in cohorts of individuals starting antiretroviral therapy between 2004 and 2009: World Health Organization global report from 50 countries. *Clin Infect Dis*. 2012 May;54 Suppl 4:S280-9.

Betancor G, Garriga C, Puertas MC, Nevot M, Anta L, Blanco JL, Pérez-Elías MJ, de Mendoza C, Martínez MA, Martínez-Picado J, Menéndez-Arias L, Resistance Platform of the Spanish AIDS Research Network (ResRIS), Iribarren JA, Caballero E, Ribera E, Llibre JM, Clotet B, Jaén A, Dalmau D, Gatel JM, Peraire J, Vidal F, Vidal C, Riera M, Córdoba J, López Aldegue J, Galindo MJ, Gutiérrez F, Álvarez M, García F, Pérez-Romero P, Viciano P, Leal M, Palomares JC, Pineda JA, Viciano I, Santos J, Rodríguez P, Gómez Sirvent JL, Gutiérrez C, Moreno S, Pérez-Olmeda M, Alcamí J, Rodríguez C, del Romero J, Cañizares A, Pedreira J, Miralles C, Ocampo A, Morano L, Aguilera A, Garrido C, Manuzza G, Poveda E, Soriano V. Clinical, virological and biochemical evidence supporting the association of HIV-1 reverse transcriptase polymorphism R284K and thymidine analogue resistance mutations M41L, L210W and T215Y in patients failing tenofovir/emtricitabine therapy. *Retrovirology*. 2012 Aug 13;9:68.

Bizinoto MC, Yabe S, Leal É, Kishino H, Martins Lde O, de Lima ML, Morais ER, Diaz RS, Janini LM. Codon pairs of the HIV-1 vif gene correlate with CD4+ T cell count. *BMC Infect Dis*. 2013 Apr 11;13:173.

Bodhade AS, Ganvir SM, Hazarey VK. Oral manifestations of HIV infection and their correlation with CD4 count. *J Oral Sci*. 2011 Jun;53(2):203-11.

Boivin MJ, Ruel TD, Boal HE, Bangirana P, Cao H, Eller LA, Charlebois E, Havlir DV, Kanya MR, Achan J, Akello C, Wong JK. HIV-subtype A is associated with poorer neuropsychological performance compared with subtype D in antiretroviral therapy-naive Ugandan children. *AIDS*. 2010 May 15;24(8):1163-70.

Bonamigo RR, Borges K, Rietjens J, Arenzon S, Blanco LF, Loureiro R. Human T lymphotropic virus 1 and hepatitis C virus as risk factors for inflammatory dermatoses in HIV-positive patients. *Int J Dermatol*. 2004 Aug;43(8):568-70.

Braga PE. HIV/Aids: gênero e fatores prognósticos para a sua incidência e mortalidade em um Centro de Referência da Cidade de São Paulo [tese]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo; 2005.

Brasil. Ministério da Saúde. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para adultos vivendo com HIV/AIDS. 2013 [citado 23 maio 2013]. Disponível em: http://www.aids.gov.br/sites/default/files/arquivos_anexos/protocololink.pdf.

Brasil. Ministério da Saúde. Recomendações para Terapia Antirretroviral em Adultos Infectados pelo HIV. Brasília; 2008

Brindeiro RM, Diaz RS, Sabino EC, Morgado MG, Pires IL, Brigido L, Dantas MC, Barreira D, Teixeira PR, Tanuri A, Brazilian Network for Drug Resistance Surveillance. Brazilian Network for HIV Drug Resistance Surveillance (HIV-BResNet): a survey of chronically infected individuals. *AIDS*. 2003 May;17(7):1063-9.

Burgoyne RW, Tan DH. Prolongation and quality of life for HIV-infected adults treated with highly active antiretroviral therapy (HAART): a balancing act. *J Antimicrob Chemother*. 2008 Mar;61(3):469-73.

Butt FM, Vaghela VP, Chindia ML. Correlation of CD4 counts and CD4/CD8 ratio with HIV-infection associated oral manifestations. *East Afr Med J*. 2007 Aug;84(8):383-8.

Caliendo AM, Savara A, An D, DeVore K, Kaplan JC, D'Aquila RT. Effects of zidovudine-selected human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase amino acid substitutions on processive DNA synthesis and viral replication. *J Virol*. 1996 Apr;70(4):2146-53.

Camacho R. Resistências aos antiretrovirais [2009?] [citado 11 ago. 2009]. Disponível em: http://www.aidscongress.net/article.php?id_comunicacao=31.

Campisi G, Pizzo G, Mancuso S, Margiotta V. Gender differences in human immunodeficiency virus-related oral lesions: an Italian study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Radiol Endod*. 2001 May;91(5):546-51.

Caseiro MM, Golegã AAC, Etzel A, Diaz RS. Characterization of virologic failure after na initially successful 48-week course of antiretroviral therapy in HIV/AIDS outpatients treated in Santos, Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2008 Jun;12(3):162-6.

Cavalcanti AMS, Lacerda HR, Brito AM, Pereira S, Medeiros D, Oliveira S. Antiretroviral resistance in individuals presenting therapeutic failure and subtypes of the human immunodeficiency virus type 1 in the Northeast Region of Brazil Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2007 Nov;102(7):785-92.

Ceballos-Salobreña A, Aguirre-Urizar JM, Bagan-Sebastian JV. Oral manifestations associated with human immunodeficiency virus infection in a Spanish population. *J Oral Pathol Med*. 1996 Nov;25(10):523-6.

Ceballos-Salobreña A, Gaitán-Cepeda LA, Ceballos-Garcia L, Lezama-Del Valle D. Oral lesions in HIV/AIDS patients undergoing highly active antiretroviral treatment including protease inhibitors: a new face of oral AIDS? *AIDS Patient Care STDS*. 2000 Dec;14(12):627-35.

Centers for Disease Control and Prevention. [2009?] [citado 20 set. 2009]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/EpiInfo/>.

Chequer P, Hearst N, Hudes ES, Castilho E, Rutherford G, LouresL, Rodrigues L. Determinants of survival in adult Brazilian AIDS patients, 1982-1989. *AIDS*. 1992 May;6(5):483-7.

Clavel F, Hance AJ. HIV drug resistance. *N Engl J Med*. 2004 Mar 4;350(10):1023-35.

Coakley E, Petropoulos CJ, Whitcomb JM. Assessing chemokine co-receptor usage in HIV. *Curr Opin Infect Dis*. 2005 Feb;18(1):9-15.

Coffin JM, Hughes SH, Varmus HE. *Retroviruses*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1997.

Connor EM, Sperling RS, Gelber R, Kiselev P, Scott G, O'Sullivan MJ, VanDyke R, Bey M, Shearer W, Jacobson RL, Jimenez E, O'Neill E, Bazin B, Delfraissy JF, Culnane M, Coombs R, Elkins M, Moya J, Stratton P, Balsley J. Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med*. 1994 Nov 3;331(18):1173-80.

Couto-Fernandez JC, Silva-de-Jesus C, Rachid M. Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV-1) genotyping in Rio de Janeiro, Brazil: assessing subtype and drug-resistance associated mutations in HIV-1 infected individual failing highly active antiretroviral therapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005;100(1):73-8.

CRT/DST-AIDS. Centro de referência e treinamento em doenças sexualmente transmissíveis e síndrome da imunodeficiência adquirida [2013?] [citado 29 ago. 2013]. Disponível em: <http://www.saude.sp.gov.br/centro-de-referencia-e-treinamento-dstaidsp/crt/sobre-o-crt-dstaidsp>.

Davoodi P, Hamian M, Nourbaksh R, Ahmadi Motamayel F. Oral Manifestations Related To CD4 Lymphocyte Count in HIV-Positive Patients. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2010 Fall;4(4):115-9.

de Felipe B, Pérez-Romero P, Abad-Fernández M, Fernandez-Cuenca F, Martinez-Fernandez FJ, Trastoy M, Mata Rdel C, López-Cortés LF, Leal M, Viciano P, Vallejo A. Prevalence and resistance mutations of non-B HIV-1 subtypes among immigrants in Southern Spain along the decade 2000-2010. *Virology*. 2011 Aug 26;8:416.
Diaz, RS. Guia para o manuseio de resistência antirretroviral. São Paulo: Permanyer Brasil Publicações; 2011 [citado 23 mar. 2013]. Disponível em: http://www.centrodegenomas.com.br/arquivos/1/Guia_Resistencia_Antirretroviral.pdf.

Dolder CR, Patterson TL, Jeste DV. HIV, psychosis and aging: past, present and future. *AIDS*. 2004 Jan 1;18 Suppl 1:S35-42.

Dzangare J, Gonese E, Mugurungi O, Shamu T, Apollo T, Bennett DE, Kelley KF, Jordan MR, Chakanyuka C, Cham F, Banda RM. Monitoring of early warning indicators for HIV drug resistance in antiretroviral therapy clinics in Zimbabwe. *Clin Infect Dis*. 2012 May;54 Suppl 4:S313-6.

Easterbrook PJ, Smith M, Mullen J, O'Shea S, Chrystie I, de Ruiter A, Tatt ID, Geretti AM, Zuckerman M. Impact of HIV-1 viral subtype on disease progression and response to antiretroviral therapy. *J Int AIDS Soc*. 2010 Feb 3;13:4.

EC-Clearinghouse on Oral Problems Related to HIV-infection and WHO Collaborating Centre on Oral Manifestations of the Immunodeficiency Virus. Classification and diagnostic criteria for oral lesions in HIV-infection. *J Oral Pathol Med*. 1993 Aug;22(7):289-91.

Epstein JB, Mathias RG. Oral manifestations of human immunodeficiency virus infection. *Can Fam Physician*. 1988 Aug;34:1773-80.

Erice A, Mayers DL, Strike DG, Sannerud KJ, McCutchan FE, Henry K, Balfour HH Jr. Brief report: primary infection with zidovudine-resistant human immunodeficiency virus type 1. *N Engl J Med*. 1993 Apr 22;328(16):1163-5.

Feigal DW, Katz MH, Greenspan D, Westenhouse J, Winkelstein Jr W, Lang W, Samuel M, Buchbinder SP, Lifson AR. The prevalence of oral lesions in HIV-infected homosexual and bisexual men: three San Francisco epidemiological cohorts. *AIDS*. 1991;5(5):519-25.

Fethi T, Asma J, Amine SM, Amel EB, Taoufik BC, Mohamed C, Amel LO, Mounira G. Effects on immunological and virological outcome of patients using one protease inhibitor or one non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor in a triple antiretroviral therapy: normal clinical practice versus clinical trial findings. *Curr HIV Res*. 2005 Jul;3(3):271-6.

Francischini E, Martins FM, Braz-Silva PH, Magalhães MH, Ortega KL. HIV-associated oral plasmablastic lymphoma and role of adherence to highly active antiretroviral therapy. *Int J STD AIDS*. 2010 Jan;21(1):68-70.

Frater AJ, Dunn DT, Beardall AJ, Ariyoshi K, Clarke JR, McClure MO, Weber JN. Comparative response of African HIV-1- infected individuals to highly active antiretroviral. *AIDS*. 2002 May 24;16(8):1139-46.

Foccacia R, Veronesi R. Tratado de infectologia. 3.ed. rev. e atual. São Paulo. Atheneu; 2007. p. 111-3 e 238 -9.

FDA. US Food and Drug Administration. Antiretroviral drugs used in the treatment of HIV infection. [2013?] [citado 05 set. 2013]. Disponível em: <http://www.fda.gov/ForConsumers/byAudience/ForPatientAdvocates/HIVandAIDSActivities/ucm118915.htm>.

Furrer H, Fux C. Opportunistic infections: an update. J HIV Ther. 2002 Feb;7(1):2-7.

Gaitán-Cepeda LA, Ceballos Salobreña A, López Ortega K, Arzate Mora N, Jiménez Soriano Y. Oral lesions and immune reconstitution syndrome in HIV+/AIDS patients receiving highly active antiretroviral therapy. Epidemiological evidence. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2008 Feb 1;13(2):E85-93.

Gaitán-Cepeda LA, Martínez-González M, Ceballos-Salobreña A. Oral candidosis as a clinical marker of immune failure in patients with HIV/AIDS on HAART. AIDS Patient Care STDS. 2005 Feb;19(2):70-7.

Gaitán-Cepeda LA, Morales J, Sánchez-Vargaz L, Aquino-García S, Fragoso-Ríos, R, Cuairán-Ruidiaz V, Avila-Figueroa C. Prevalence of oral lesions in Mexican children with perinatally acquired HIV: association with immunological status, viral load, and gender. AIDS Patient Care STDS. 2002;16(4):151-6.

García-Lerma JG. Diversity of thymidine analogue resistance genotypes among newly diagnosed HIV-1-infected persons. J Antimicrob Chemother. 2005 Aug;56(2):265-9.

Gaurav S, Keerthilatha PM, Archana N. Prevalence of Oral Manifestations and Their Association with CD4/CD8 Ratio and HIV Viral Load in South India. Int J Dent. 2011;2011:964278.

Glick M, Muzyka BC, Lurie D, Salkin LM. Oral manifestations associated with HIV-related disease as markers for immune suppression and AIDS. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1994 Apr;77(4):344-9.

Gojobori T, Moriyama EN, Ina Y, Ikeo K, Miura T, Tsujimoto H, Hayami M, Yokoyama S. Evolutionary origin of human and simian immunodeficiency viruses. Proc Natl Acad Sci U S A. 1990 Jun;87(11):4108-11.

Greene WC. A history of AIDS: looking back to see ahead. *Eur J Immunol*. 2007 Nov;37 Suppl 1:S94-102.

Greene WC. The molecular biology of human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med*. 1991 Jan 31;324(5):308-17.

Greenspan D, Canchola AJ, MacPhail LA, Cheikh B, Greenspan JS. Effect of highly active antiretroviral therapy on frequency of oral warts. *Lancet*. 2001 May 5;357(9266):1411-2.

Greenspan D, Greenspan JS. Oral manifestations of HIV infection. *Dermatol Clin*. 1991 Jul;9(3):517-22.

Greenspan D, Greenspan JS. Oral mucosal manifestations of AIDS? *Dermatol Clin*. 1987 Oct;5(4):733-7.

Greenspan D, Komaroff E, Redford M, Phelan JA, Navazesh M, Alves MEA, Kamrath H, Mulligan R, Barr CE, Greenspan JS. Oral mucosal lesions and HIV viral load in the Women's Interagency HIV Study (WIHS). *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2000 Sep;25(1):44-50.

Greenspan JS. Sentinels and signposts: the epidemiology and significance of the oral manifestations of HIV disease. *Oral Dis*. 1997 May;3 Suppl 1:S13-7.

Greenspan JS, Barr CE, Sciubba JJ, Winkler JR. Oral manifestations of HIV infection. Definitions, diagnostic criteria, and principles of therapy. The U.S.A. Oral AIDS Collaborative Group. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1992 Feb;73(2):142-4.

Guggenheimer J, Moore PA. Xerostomia: etiology, recognition and treatment. *J Am Dent Assoc*. 2003;134(1):61-9.

Gulick RM, Lalama CM, Ribaud HJ, Shikuma CM, Schackman BR, Schouten J, Squires KE, Koletar SL, Pilcher CD, Reichman RC, Klingman KL, Kuritzkes DR. Intensification of a triple-nucleoside regimen with tenofovir or efavirenz in HIV-1-infected patients with virological suppression. *AIDS*. 2007 Apr;21(7):813-23.

Haase AT. Population biology of HIV-1 infection: viral and CD4+ T cell demographics and dynamics in lymphatic tissues. *Annu Rev Immunol*. 1999;17:625-56.

Han X, Zhang M, Dai D, Wang Y, Zhang Z, Liu J, Geng W, Jiang Y, Takebe Y, Shang H. Genotypic resistance mutations to antiretroviral drugs in treatment-naïve HIV/AIDS patients living in Liaoning Province, China: baseline prevalence and subtype-specific difference. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2007 Mar;23(3):357-64.

Havlir DV, Richman DD. Viral dynamics of HIV: implications for drug development and therapeutic strategies. *Ann Intern Med*. 1996 Jun 1;124(11):984-94.

Hedt BL, Wadonda-Kabondo N, Makombe S, Harries AD, Schouten EJ, Limbambala E, Hochgesang M, Aberle-Grosse J, Kamoto K. Early warning indicators for HIV drug resistance in Malawi. *Antivir Ther*. 2008;13 Suppl 2:69-75.

Hertogs K, Bloor S, De Vroey V, van Den Eynde C, Dehertogh P, van Cauwenberge A, Stürmer M, Alcorn T, Wegner S, van Houtte M, Miller V, Larder BA. A novel human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase mutational pattern confers phenotypic lamivudine resistance in the absence of mutation 184V. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000 Mar;44(3):568-73.

Hodgson TA. HIV-associated oral lesions: prevalence in Zambia. *Oral Dis*. 1997 May;3 Suppl 1:S46-50.

Hodgson TA, Greenspan D, Greenspan JS. Oral lesions of HIV disease and HAART in industrialized countries. *Adv Dent Res*. 2006 Apr 1;19(1):57-62.

Hofman P, Nelson AM. The pathology induced by highly active antiretroviral therapy against human immunodeficiency virus: an update. *Curr Med Chem*. 2006;13(26):3121-32.

Hong SY, Jonas A, Dumeni E, Badi A, Pereko D, Blom A, Muthiani VS, Shiningavamwe AN, Mukamba J, Andemichael G, Barbara R, Bennett DE, Jordan MR. Population-based monitoring of HIV drug resistance in Namibia with early warning indicators. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010 Dec;55(4):27-31.

Howell RB, Jandinski JJ, Palumbo P, Shey Z, Houpt MI. Oral soft tissue manifestations and CD4 lymphocyte counts in HIV-infected children. *Pediatr Dent*. 1996 Mar-Apr;18(2):117-20.

Ibe S, Yokomaku Y, Shiino T, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Mamiya N, Utsumi M, Kato S, Hamaguchi M, Sugiura W. HIV-2 CRF01_AB: first circulating recombinant form of HIV-2. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2010 Jul;54(3):241-7.

Jack N, Ravasi G, Schrooten W, Sutherland D, Ghidinelli M, Del Riego A. Implementing early-warning indicators of HIV drug resistance in the Caribbean. *Clin Infect Dis*. 2012 May;54 Suppl 4:S290-3.

Johnson VA, Calvez V, Gunthard HF, Paredes R, Pillay D, Shafer RW, Wensing AM, Richman DD. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: March 2013. *Top Antivir Med*. 2013 Feb-Mar;21(1):6-14.

Jonsson N, Zimmerman M, Chidzonga MM, Jonsson K. Oral manifestations in 100 Zimbabwean HIV/AIDS patients referred to a specialist centre. *Cent Afr J Med*. 1998 Feb;44(2):31-4.

Kerdpon D, Pongsiriwet S, Pangsomboon K, Iamaroon A, Kampoo K, Sretrirutchai S, Geater A, Robison V. Oral manifestations of HIV infection in relation to clinical and CD4 immunological status in northern and southern Thai patients. *Oral Dis*. 2004 May;10(3):138-44.

Klimas N, Koneru AO, Fletcher MA. Overview of HIV. *Psychosom Med*. 2008 Jun;70(5):523-30.

Lacerda HR, Medeiros LB, Cavalcanti AM, Ximenes RA, Albuquerque Mde F. Comparison of the epidemiology, profile of mutations, and clinical response to antiretrovirals among subtypes B and F of the human immunodeficiency virus type 1. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2007 Sep;102(6):693-9.

Lamster IB, Begg MD, Mitchell-Lewis D, Fine JB, Grbic JT, Todak GG, el-Sadr W, Gorman JM, Zambon JJ, Phelan JA. Oral manifestations of HIV infection in homosexual men and intravenous drug users. Study design and relationship of epidemiologic, clinical, and immunologic parameters to oral lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*. 1994 Aug;78(2):163-74.

Lange CG, Valdez H, Medvik K, Asaad R, Lederman MM. CD4+ T-lymphocyte nadir and the effect of highly active antiretroviral therapy on phenotypic and functional immune restoration in HIV-1 infection. *Clin Immunol*. 2002 Feb;102(2):154-61.

Lee SK, Potempa M, Swanstrom R. The choreography of HIV-1 proteolytic processing and virion assembly. *J Biol Chem*. 2012 Nov 30;287(49):40867-74.

Levy JA, Hoffman AD, Kramer SM, Landis JA, Shimabukuro JM, Oshiro LS. Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. *Science*. 1984 Aug 24;225(4664):840-2.

Levy JA. Not an HIV cure, but encouraging new directions. *N Engl J Med*. 2009 Feb 12;360(7):724-5.

Lifson AR, Hilton JF, Westenhoe JL, Canchola AJ, Samuel MC, Katz MH, Buchbinder SP, Hessel NA, Osmond DH, Shiboski S, et al. Time from HIV seroconversion to oral candidiasis or hairy leukoplakia among homosexual and bisexual men enrolled in three prospective cohorts. *AIDS*. 1994 Jan;8(1):73-9.

Liner KJ 2nd, Hall CD, Robertson KR. Impact of human immunodeficiency virus (HIV) subtypes on HIV-associated neurological disease. *J Neurovirol*. 2007 Aug;13(4):291-304.

Lorete RS. Diversidade e resistência do HIV-1 em gestantes soropositivas provenientes das regiões Sul e Sudeste do Brasil [dissertação]. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz; 2005.

Loureiro R, Blank D, Wortmann AR, Rosa T, Morgado M. Prevalência e fatores de risco associados ao Subtipo C do HIV-1 em pacientes soropositivos em acompanhamento no Ambulatório de Dermatologia Sanitária da Secretaria da Saúde do RGS. *Bol Saude*. 2002;16(2):82-90.

Ma Y, Zhang F, Li H, Wu H, Zhang J, Ding Y, Zhao D, Fang H, Zhou S, Liu Z, Zhang L, Osborne C, Seguy N, Zhao Y. Monitoring HIV drug resistance using early warning indicators in China: results from a pilot survey conducted in 2008. *Clin Infect Dis*. 2012 May;54 Suppl 4:S300-2.

Maisnier-Patin S, Andersson DI. Adaptation to the deleterious effects of antimicrobial drug resistance mutations by compensatory evolution. *Res Microbiol*. 2004 Jun;155(5):360-9.

Marins JR, Jamal LF, Chen SY, Barros MB, Hudes ES, Barbosa AA, Chequer P, Teixeira PR, Hearst N. Dramatic improvement in survival among adult Brazilian AIDS patients. *AIDS*. 2003 Jul 25;17(11):1675-82.

Marlink R, Kanki P, Thior I, Travers K, Eisen G, Siby T, Traore I, Hsieh CC, Dia MC, Gueye EH, et al. Reduced rate of disease development after HIV-2 infection as compared to HIV-1. *Science*. 1994 Sep 9;265(5178):1587-90.

Martínez-Cajas JL, Pant-Pai N, Klein MB, Wainberg MA. Role of genetic diversity amongst HIV-1 non-B subtypes in drug resistance: a systematic review of virologic and biochemical evidence. *AIDS Rev*. 2008 Oct-Dec;10(4):212-23.

Medeiros MS, Arruda EA, Guerrant RL, Brown CC, Lima AA. Impact of the number of failed therapeutic regimes on the development of resistance mutations to HIV-1 in northeast Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2007 Oct;11(5):451-5.

Mellors JW, Rinaldo CR Jr, Gupta P, White RM, Todd JA, Kingsley LA. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science*. 1996 May 24;272(5265):1167-70.

Miziara ID, Weber R. Oral candidosis and oral hairy leukoplakia as predictors of HAART failure in Brazilian HIV-infected patients. *Oral Dis*. 2006 Jul;12(4):402-7.

Miziara ID, Weber R. Oral lesions as predictors of highly active antiretroviral therapy failure in Brazilian HIV-infected children. *J Oral Pathol Med*. 2008 Feb;37(2):99-106.

Moniaci D, Greco D, Flecchia G, Raiteri R, Sinicco A. Epidemiology, clinical features and prognostic value of HIV-1 related oral lesions. *J Oral Pathol Med*. 1990 Nov;19(10):477-81.

Monno L, Appice A, Cavaliere R, Scarabaggio T, Angarano G. Highly active antiretroviral therapy failure and protease and reverse transcriptase human immunodeficiency virus type 1 gene mutations. *J Infect Dis*. 1999 Aug;180(2):568-71.

Mori S, Levin P. A brief review of potential mechanisms of immune reconstitution inflammatory syndrome in HIV following antiretroviral therapy. *Int J STD AIDS*. 2009 Jul;20(7):447-52.

Morimoto HK, Caterino-De-Araujo A, Morimoto AA, Reiche EM, Ueda LT, Matsuo T, Stegmann JW, Reiche FV. Seroprevalence and risk factors for human T cell lymphotropic virus type 1 and 2 infection in human immunodeficiency virus-infected patients attending AIDS referral center health units in Londrina and other communities in Parana, Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2005 Apr;21(4):256-62.

National Institutes of Health. [2009] [acesso 11 ago. 2009]. Disponível em: <http://www.aidsinfo.nih.gov/DrugsNew/SearchResults.aspx?MenuItem=Drugs&AlphaLetter=All>. AIDS info: Offering information on HIV/AIDS Treatment, Prevention, and Research.

Navazesh M, Mulligan R, Komaroff E, Redford M, Greenspan D, Phelan J. The prevalence of xerostomia and salivary gland hypofunction in a cohort of HIV-positive and at-risk women. *J Dent Res*. 2000 Jul;79(7):1502-7.

Ng OT, Lin L, Laeyendecker O, Quinn TC, Sun YJ, Lee CC, Leo YS. Increased rate of CD4+ T-cell decline and faster time to antiretroviral therapy in HIV-1 subtype CRF01_AE infected seroconverters in Singapore. *PLoS One*. 2011 Jan 27;6(1):e15738.

Nijhuis M, Schuurman R, de Jong D, Erickson J, Gustchina E, Albert J, Schipper P, Gulnik S, Boucher CA. Increased fitness of drug resistant HIV-1 protease as a result of acquisition of compensatory mutations during suboptimal therapy. *AIDS*. 1999 Dec 3;13(17):2349-59.

Nijhuis M, Deeks S, Boucher C. Implications of antiretroviral resistance on viral fitness. *Curr Opin Infect Dis*. 2001 Feb;14(1):23-8.

Novitsky V, Wester CW, DeGruttola V, Bussmann H, Gaseitsiwe S, Thomas A, Moyo S, Musonda R, Van Widenfelt E, Marlink RG, Essex M. The reverse transcriptase 67N 70R 215Y genotype is the predominant TAM pathway associated with virologic failure among HIV type 1C-infected adults treated with ZDV/ddI-containing HAART in southern Africa. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2007 Jul;23(7):868-78.

Oliveira MA, Gallottini M, Pallos D, Maluf PS, Jablonka F, Ortega KL. The success of endosseous implants in human immunodeficiency virus-positive patients receiving antiretroviral therapy: a pilot study. *J Am Dent Assoc*. 2011 Sep;142(9):1010-6.

Orellana RV, Fonseca HA, Monteiro AM, Ortega KL, Gallottini MH, Gidlund M, Pobocik AM. Association of autoantibodies anti-OxLDL and markers of inflammation with stage of HIV infection. *Int J Cardiol*. 2013 Sep 30;168(2):1610-2.

Ortega KL, Rezende NP, Magalhães MH. Diagnosing secondary syphilis in a patient with HIV. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2009a Mar;47(2):169-70.

Ortega KL, Vale DA, Magalhães MH. Impact of PI and NNRTI HAART-based therapy on oral lesions of Brazilian HIV-infected patients. *J Oral Pathol Med*. 2009b Jul;38(6):489-94.

Ortega KL, Rezende NP, Lotufo MA, Magalhães MH. Mandibular lesion in an HIV-positive patient. *J Oral Maxillofac Surg*. 2008a Oct;66(10):2140-4.

Ortega KL, Ceballos-Salobreña A, Gaitán-Cepeda LA, Magalhães MG. Oral manifestations after immune reconstitution in HIV patients on HAART. *Int J STD AIDS*. 2008b May;19(5):305-8.

Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, Aschman DJ, Holmberg SD. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med*. 1998 Mar 26;338(13):853-60.

Parkin NT, Chappey C, Petropoulos CJ. Improving lopinavir genotype algorithm through phenotype correlations: novel mutation patterns and amprenavir cross-resistance. *AIDS*. 2003 May 2;17(7):955-61.

Patton LL. Sensitivity, specificity, and positive predictive value of oral opportunistic infections in adults with HIV/AIDS as markers of immune suppression and viral burden. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2000 Aug;90(2):182-8.

Patton LL, McKaig RG, Strauss RP, Eron JJ Jr. Oral manifestations of HIV in a southeast USA population. *Oral Dis*. 1998 Sep;4(3):164-9.

Perelson AS, Neumann AU, Markowitz M, Leonard JM, Ho DD. HIV-1 dynamics in vivo: virion clearance rate, infected cell life-span, and viral generation time. *Science*. 1996 Mar 15;271(5255):1582-6.

Pieniazek D, Rayfield M, Hu DJ, Nkengasong J, Wiktor SZ, Downing R, Biryahwaho B, Mastro T, Tanuri A, Soriano V, Lal R, Dondero T. Protease sequences from HIV-1 group M subtypes A-H reveal distinct amino acid mutation patterns associated with protease resistance in protease inhibitor-naïve individuals worldwide. HIV Variant Working Group. *AIDS*. 2000 Jul 28;14(11):1489-95.

Pimentel VF, Morgado MG, Bello G, Guimarães MD, Castilho EA, Veloso VG, Guimarães ML. Temporal Trends and Molecular Epidemiology of HIV Type 1 Infection in Rio de Janeiro, Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2013 Sep 28. [Epub ahead of print]

Pinto ME, Struchiner CJ. [HIV-1 diversity: a tool for studying the pandemic]. *Cad Saude Publica*. 2006 Mar;22(3):473-84.

Plantier JC, Leoz M, Dickerson JE, De Oliveira F, Cordonnier F, Lemée V, Damond F, Robertson DL, Simon F. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nat Med*. 2009 Aug;15(8):871-2.

Prellwitz IM, Alves BM, Ikeda ML, Kuhleis D, Picon PD, Jarczewski CA, Osório MR, Sánchez A, Seuánez HN, Larouzé B, Soares MA, Soares EA. HIV behind bars: human immunodeficiency virus cluster analysis and drug resistance in a reference correctional unit from southern Brazil. *PLoS One*. 2013 Jul 9;8(7):e69033.

Raboud JM, Harris M, Rae S, Montaner JS. Impact of adherence on duration of virological suppression among patients receiving combination antiretroviral therapy. *HIV Med*. 2002 Apr;3(2):118-24.

Ramírez-Amador VA, Esquivel-Pedraza L, Ponce de León S, Ponce de León S. Prognostic value of oral candidosis and hairy leukoplakia in 111 Mexican HIV-infected patients. *J Oral Pathol Med*. 1996 May;25(5):206-11.

Ramírez-Amador V, Ponce-De-León S, Sierra-Madero J, Soto-Ramírez L, Esquivel-Pedraza L, Anaya-Saavedra G. Synchronous kinetics of CD4+ lymphocytes and viral load before the onset of oral candidosis and hairy leukoplakia in a cohort of Mexican HIV-infected patients. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2005 Dec;21(12):981-90.

Ramírez-Amador V, Ponce-de-León S, Anaya-Saavedra G, Crabtree Ramírez B, Sierra-Madero J. Oral lesions as clinical markers of highly active antiretroviral therapy failure: a nested case-control study in Mexico City. *Clin Infect Dis*. 2007 Oct 1;45(7):925-32. Epub 2007 Aug 23.

Ramirez-Amador V, Esquivel-Pedraza L, Sierra-Madero J, Ponce-de-Leon S, Ponce-de-Leon S. Oral manifestations of HIV infection by gender and transmission category in Mexico City. *J Oral Pathol Med*. 1998 Mar;27(3):135-40.

Ray N, Doms RW. HIV-1 co-receptors and their inhibitors. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2006;303:97-120.

Ribera E, Tuset M, Martín M, del Cacho E. Characteristics of antiretroviral drugs. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011 May;29(5):362-91.

Riddler SA, Haubrich R, DiRienzo AG, Peeples L, Powderly WG, Klingman KL, Garren KW, George T, Rooney JF, Brizz B, Lalloo UG, Murphy RL, Swindells S, Havlir D, Mellors JW; AIDS Clinical Trials Group Study A5142 Team. Class-sparing regimens for initial treatment of HIV-1 infection. *N Engl J Med*. 2008 May 15;358(20):2095-106.

Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, Carr JK, Foley B, Funkhouser RK, Gao F, Hahn BH, Kalish ML, Kuiken C, Learn GH, Leitner T, McCutchan F, Osmanov S, Peeters M, Pieniazek D, Salminen M, Sharp PM, Wolinsky S, Korber B. HIV-1 nomenclature proposal. *Science*. 2000 Apr 7;288(5463):55-6.

Rosseto JHF. Quantificação do Epstein-Barr Vírus (EBV) em sangue e saliva de pacientes soropositivos para o HIV, e sua relação com a Leucoplasia Pilosa [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo; 2010.

Ruibal-Ares BH, Belmonte L, Baré PC, Parodi CM, Massud I, de Bracco MM. HIV-1 infection and chemokine receptor modulation. *Curr HIV Res*. 2004 Jan;2(1):39-50.

Sacktor N, Nakasujja N, Skolasky RL, Rezapour M, Robertson K, Musisi S, Katabira E, Ronald A, Clifford DB, Laeyendecker O, Quinn TC. HIV subtype D is associated with dementia, compared with subtype A, in immunosuppressed individuals at risk of cognitive impairment in Kampala, Uganda. *Clin Infect Dis*. 2009 Sep 1;49(5):780-6.

Sacktor N, Nakasujja N, Robertson K, Clifford DB. HIV-associated cognitive impairment in sub-Saharan Africa - the potential effect of clade diversity. *Nat Clin Pract Neurol*. 2007 Aug;3(8):436-43.

Santos LC, Castro GF, de Souza IP, Oliveira RH. Oral manifestations related to immunosuppression degree in HIV-positive children. *Braz Dent J*. 2001;12(2):135-8.

Santos JR, Llibre JM, Imaz A, Domingo P, Iribarren JA, Mariño A, Miralles C, Galindo MJ, Ornelas A, Moreno S, Schapiro JM, Clotet B; Call Conference Group. Mutations in the protease gene associated with virological failure to lopinavir/ritonavir-containing regimens. *J Antimicrob Chemother*. 2012 Jun;67(6):1462-9.

Saracino A, Monno L, Scudeller L, Cibelli DC, Tartaglia A, Punzi G, Torti C, Lo Caputo S, Mazzotta F, Scotto G, Carosi G, Angarano G. Impact of unreported HIV-1 reverse transcriptase mutations on phenotypic resistance to nucleoside and non-nucleoside inhibitors. *J Med Virol*. 2006 Jan;78(1):9-17.

Schmidt-Westhausen A, Grünewald T, Reichart PA, Pohle HD. Oral manifestations in 70 German HIV-infected women. *Oral Dis*. 1997 May;3 Suppl 1:S28-30.

Selwyn PA, Alcabes P, Hartel D, Buono D, Schoenbaum EE, Klein RS, Davenney K, Friedland GH. Clinical manifestations and predictors of disease progression in drug users with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med*. 1992 Dec 10;327(24):1697-703.

Sharma PL, Chunduri H, Wise J, Mindley R, Rimland D. Replication-independent expression of anti-apoptosis marker genes in human peripheral blood mononuclear cells infected with the wild-type HIV-1 and reverse transcriptase variants. *Viral Immunol*. 2012 Feb;25(1):12-20.

Shiboski CH, Hilton JF, Neuhaus JM, Canchola A, Greenspan D. Human immunodeficiency virus-related oral manifestations and gender. A longitudinal analysis. The University of California, San Francisco Oral AIDS Center Epidemiology Collaborative Group. *Arch Intern Med*. 1996 Oct 28;156(19):2249-54.

Schmidt B, Walter H, Moschik B, Paatz C, van Vaerenbergh K, Vandamme AM, Schmitt M, Harrer T, Uberla K, Korn K. Simple algorithm derived from a geno-/phenotypic database to predict HIV-1 protease inhibitor resistance. *AIDS*. 2000 Aug 18;14(12):1731-8.

Sigaloff KC, Hamers RL, Menke J, Labib M, Siwale M, Ive P, Botes ME, Kityo C, Mandaliya K, Wellington M, Osibogun A, Geskus RB, Stevens WS, van Vugt M, Rinkede Wit TF; PharmAccess African Studies to Evaluate Resistance. Early warning indicators for population-based monitoring of HIV drug resistance in 6 African countries. *Clin Infect Dis*. 2012 May;54 Suppl 4:S294-9.

Silva Junior NG. Prevalência de calcificação de carótida detectada em radiografias panorâmicas de pacientes HIV+ em uso de HAART [tese]. São Paulo: Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo; 2013.

Simon F, Maucière P, Roques P, Loussert-Ajaka I, Müller-Trutwin MC, Saragosti S, Georges-Courbot MC, Barré-Sinoussi F, Brun-Vézinet F. Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. *Nat Med*. 1998 Sep;4(9):1032-7.

Simon V, Ho DD, Abdool Karim Q. HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and treatment. *Lancet*. 2006 Aug 5;368(9534):489-504.

Soares EA, Santos AF, Sousa TM, Sprinz E, Martinez AM, Silveira J, Tanuri A, Soares MA. Differential drug resistance acquisition in HIV-1 of subtypes B and C. *PLoS One*. 2007 Aug 15;2(8):e730.

Sontakke SA, Umarji HR, Karjodkar F. Comparison of oral manifestations with CD4 count in HIV-infected patients. *Indian J Dent Res.* 2011 Sep-Oct;22(5):732.

Souza DC, Sucupira MC, Brindeiro RM, Fernandez JC, Sabino EC, Inocencio LA, Diaz RS. The Brazilian network for HIV-1 genotyping external quality control assurance programme. *J Int AIDS Soc.* 2011 Sep 21;14:45.

Sroussi HY, Villines D, Epstein J, Alves MC, Alves ME. The correlation between prevalence of oral manifestations of HIV and CD4+ lymphocyte counts weakens with time. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2006 Aug 1;42(4):516-8.

Stanford University. HIV drug resistance database [2013] [citado 07 set. 2013]. Disponível em: <http://hivdb.stanford.edu/>.

Stoeckli TC, MaWhinney S, Uy J, Duan C, Lu J, Shugarts D, Kuritzkes DR. Phenotypic and genotypic analysis of biologically cloned human immunodeficiency virus type 1 isolates from patients treated with zidovudine and lamivudine. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002 Dec;46(12):4000-3.

Sucupira MC, Sanabani S, Cortes RM, Giret MT, Tomiyama H, Sauer MM, Sabino EC, Janini LM, Kallas EG, Diaz RS. Faster HIV-1 disease progression among Brazilian individuals recently infected with CXCR4-utilizing strains. *PLoS One.* 2012;7(1):e30292.

Sucupira MC, Munerato P, Silveira J, Santos AF, Janini LM, Soares MA, Diaz RS. Phenotypic susceptibility to antiretrovirals among clades C, F, and B/F recombinant antiretroviral-naïve HIV type 1 strains. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2013 Jun;29(6):880-6.

Sucupira MCA, Janini LMR. Subtipos do HIV. *Tendências em HIV AIDS.* 2006;1(2):7-14.

Sundaravaradan V, Das SR, Ramakrishnan R, Sehgal S, Gopalan S, Ahmad N, Jameel S. Role of HIV-1 subtype C envelope V3 to V5 regions in viral entry, coreceptor utilization and replication efficiency in primary T-lymphocytes and monocyte-derived macrophages. *Virol J.* 2007 Nov 24;4:126.

Syrjänen S, Valle SL, Anttonen J, Suni J, Saxinger C, Krohn K, Ranki A. Oral candidal infection as a sign of HIV infection in homosexual men. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1988 Jan;65(1):36-40.

Tancredi MV. Sobrevida de pacientes com HIV e AIDS nas eras pré e pós-terapia antirretroviral de alta potência, 1988 a 2005 [tese]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo; 2010.

Tang MW, Shafer RW. HIV-1 antiretroviral resistance: scientific principles and clinical applications. *Drugs*. 2012 Jun 18;72(9):e1-25.

Tang MW, Liu TF, Shafer RW. The HIVdb system for HIV-1 genotypic resistance interpretation. *Intervirology*. 2012;55(2):98-101.

Tarosso LF, Sanabani SS, Ribeiro SP, Sauer MM, Tomiyama HI, Sucupira MC, Diaz RS, Sabino EC, Kalil J, Kallas EG. HIV Type 1 Subtype BF Leads to Faster CD4(+) T Cell Loss Compared to Subtype B. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2013 Sep 6. [Epub ahead of print].

Trigueiro M, Tedeschi-Oliveira SV, Melani RF, Ortega KL. An assessment of adverse effects of antiretroviral therapy on the development of HIV positive children by observation of dental mineralization chronology. *J Oral Pathol Med*. 2010 Jan;39(1):35-40.

UNAIDS. Report on the global AIDS epidemic. 2007 [cited 2009 Aug 11]. Disponível em: http://data.unaids.org/pub/EPISlides/2007/2007_epiupdate_en.pdf

Vergne L, Peeters M, Mpoudi-Ngole E, Bourgeois A, Liegeois F, Toure-Kane C, Mboup S, Mulanga-Kabeya C, Saman E, Jourdan J, Reynes J, Delaporte E. Genetic diversity of protease and reverse transcriptase sequences in non-subtype-B human immunodeficiency virus type 1 strains: evidence of many minor drug resistance mutations in treatment-naïve patients. *J Clin Microbiol*. 2000 Nov;38(11):3919-25.

Watanuki F. Manifestações orais associadas ao HIV após 30 anos de epidemia no Brasil [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo; 2010.

Whitcomb JM, Paxinos EE, Huang W. The presence of nucleoside analogue mutations (NAMs) is highly correlated with reduced susceptibility to all NRTIs. Program and Abstracts of the 9th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, 2002 Feb 24-28; Seattle; Washington. Seattle; 2002. Abstract 569.

Whitcomb JM, Huang W, Limoli K, Paxinos E, Wrin T, Skowron G, Deeks SG, Bates M, Hellmann NS, Petropoulos CJ. Hypersusceptibility to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors in HIV-1: clinical, phenotypic and genotypic correlates. *AIDS*. 2002 Oct 18;16(15):F41-7.

World Health Organization. HIV drug resistance early warning indicators. World Health Organization indicators to monitor HIV drug resistance prevention at antiretroviral treatment sites. WHO; 2010 [cited 2013 Aug 11]. Available from: <http://www2.paho.org/hq/dmdocuments/2010/hivdr-early-warning-indicators---updated-april-2010.pdf>.

Wilkin TJ, Gulick RM. When to start antiretroviral therapy? *Clin Infect Dis*. 2008 Dec 15;47(12):1580-6.

Yeni PG, Hammer SM, Hirsch MS, Saag MS, Schechter M, Carpenter CC, Fischl MA, Gatell JM, Gazzard BG, Jacobsen DM, Katzenstein DA, Montaner JS, Richman DD, Schooley RT, Thompson MA, Vella S, Volberding PA. Treatment for adult HIV infection: 2004 recommendations of the International AIDS Society-USA Panel. *JAMA*. 2004 Jul 14;292(2):251-65.

Young B, Johnson S, Bahktiari M, Shugarts D, Young RK, Allen M, Ramey RR 2nd, Kuritzkes DR. Resistance mutations in protease and reverse transcriptase genes of human immunodeficiency virus type 1 isolates from patients with combination antiretroviral therapy failure. *J Infect Dis*. 1998 Nov;178(5):1497-501.

Zaccarelli M, Tozzi V, Lorenzini P, Forbici F, Narciso P, Ceccherini-Silberstein F, Trotta MP, Bertoli A, Liuzzi G, Marconi P, Mosti S, Perno CF, Antinori A. The V118I mutation as a marker of advanced HIV infection and disease progression. *Antivir Ther*. 2007;12(2):163-8.

APÊNDICE A – Mutações encontradas em 110 pacientes que não apresentavam lesões orais

41L, 69D, 75M, 101Q, 103N, 181C, 184V, 215Y, 10I, 16E, 20T, 41K, 46L, 54V, 58E, 63C, 76V, 82A.
41L, 67N, 69N, 70R, 98G, 101H, 181C, 184V, 190A, 215F, 219E, 227L, 333E, 10I, 35D, 62V, 63P, 71T, 93L.
41L, 44D, 179I, 184V, 188L, 210W, 215Y.
41L, 75M, 179I, 184V, 210W, 215Y, 10I, 20R, 33F, 35D, 36L, 46I, 54A, 58E, 60E, 62V, 63P, 74S, 82A, 83D, 103N, 108I, 184V, 215Y, 10I, 24I, 35D, 46L, 63P, 71T, 82A.
75I, 90I, 103N, 106A, 36I, 41K, 60E.
41L, 44D, 67N, 75M, 118I, 184V, 210W, 215Y, 10I, 24I, 46I, 53L, 54V, 63P, 71V, 77I, 82S.
103N, 181C, 219Q, 36I, 41K, 63P, 90M, 93L.
70R, 103N, 184V, 10F, 32I, 33F, 34Q, 46I, 47V, 50V, 62V, 63, 71V, 73S, 77I, 82A, 93L.
41L, 44D, 67N, 98G, 184V, 188L, 210W, 215Y, 219N, 10F, 10I, 11I, 13V, 20I, 33V, 36I, 46L, 54V, 58E, 62V, 63P, 71V, 73S, 82A, 89V, 90M.
69N, 103N, 184V, 41K, 50L, 63P, 71V, 73S, 93L.
41L, 44D, 67N, 181I, 184V, 210W, 215Y, 219R, 10I, 13V, 20R, 33F, 35D, 36I, 41K, 54V, 62V, 71V, 73S, 82A, 90M.
215I, 36I, 62V, 63P, 71V, 77I, 93L.
41L, 103N, 184V, 210W, 215Y, 225H, 41K, 77I.
41L, 44D, 69D, 70R, 184V, 215Y, 219Q, 10I, 20M, 35D, 36I, 41K, 54V, 62V, 63P, 71V, 82A, 90M.
90I, 98S, 188L, 35D, 36I, 41K, 60E, 63P.
69N, 103N, 179E, 62V, 63P, 71T, 77I, 93L.
74V, 101Q, 101E, 181C, 184V, 190S, 63P.
41L, 67G, 70E, 74I, 184V, 215F, 10V, 16E, 20R, 33F, 35D, 36I, 46L, 53L, 54V, 58E, 60E, 62V, 71V.
67N, 69D, 70R, 101E, 103N, 179I, 184V, 190A, 219Q, 20R, 35D, 36I, 60E, 63P, 90M.
106I, 36I, 41K, 62V, 63Q, 71V, 93L.
68G, 184V, 10V, 35D, 36I, 41K, 83D.
70R, 90I, 103N, 179I, 184V, 188L, 63C, 77I.
13V, 41K, 43R, 63P, 71V, 90M, 93L.
41L, 103S, 184V, 190A, 210W, 215Y, 35D, 41K, 71T, 77I, 93L.
67N, 68G, 70R, 184V, 188L, 210S, 215Y, 35D, 74S.
41L, 44D, 67N, 75M, 98G, 101E, 181C, 184V, 190A, 210W, 215Y, 219N, 10V, 20I, 36I, 41K, 46I, 47V, 53L, 54V, 58E, 63P, 71V, 82F, 90M, 93L.
100I, 103N, 184V, 225H, 10I, 16A, 20I, 35D, 36I, 46I, 54V, 58E, 62V, 63P, 71V, 73S, 82A, 90M.

20M, 36I, 41K.
62V, 63P, 71T, 77I, 93L.
103N, 184V, 10F, 20T, 35D, 36I, 36V, 46I, 58E, 62V, 63P, 77I, 88T, 89M, 89T, 93L.
75M, 184V, 215S, 215Y, 215N, 10V, 46L, 54V, 63P, 82A, 89M.
103N, 184V, 210W, 215Y, 62V, 63P, 71T, 77I, 93L.
75M, 184V, 215Y, 10I, 35D, 45R, 63H, 93L.
103N, 108I, 184V, 35D, 36I, 41K.
98S, 103N, 108I, 184V, 60E, 63V, 77I.
70R, 184V, 215S, 333E, 36I, 90M.
62V, 98S, 103N, 215S, 215Y, 215N, 225H.
68G, 90I, 103N, 35D, 62V, 63P, 71T, 77I, 93L.
70R, 98S, 103N, 179D, 184V, 35D, 36I, 41K.
62V, 184V, 10F, 24I, 62V, 63P, 71V, 77I, 82A, 93L.
70R, 98S, 103N, 184V, 13V, 20T, 32I, 36I, 45R, 47A, 60E, 62V, 63P, 89M.
103N, 108I, 184V, 225H, 62V.
41L, 98S, 184V, 210W, 215Y, 16E, 20R, 32I, 33F, 35D, 36I, 43T, 46I, 47V, 54M, 63Q, 71V, 82A, 90M, 93L.
184V, 10I, 13V, 16E, 20T, 35D, 36I, 41K, 62V, 63T, 71V, 90M, 93L.
68G, 101E, 108I, 179I, 181C, 184V, 190A, 215Y, 35D, 36I, 41K, 63V.
184V, 30N, 33I, 35D, 35G, 36I, 88D.
67N, 70R, 98S, 101E, 179I, 179T, 184V, 190S, 219Q, 13V, 16A, 30N, 35D, 36I, 60E, 63P, 88D, 93L.
103N, 108I, 184V, 219R, 227L.
41L, 184V, 215F, 62V, 63P, 77I, 90M, 93L.
70R, 106I, 184V, 188L, 35D, 60E, 63P.
41L, 184V, 215F, 33V, 41K, 50L, 60E, 82A.
184V, 24I, 46I, 63P, 71V, 73S, 82T.
41L, 67N, 70R, 98S, 118I, 210W, 215Y, 63P.
41L, 98S, 103N, 181C, 215F, 10I, 20M, 46L, 53L, 54V, 62V, 63P, 71T, 82A, 90M, 93L.
75T, 100I, 103N, 215F, 10I, 46I, 54V, 63A, 82A.
101E, 106I, 184V, 190S, 215F, 62V, 63P, 77I, 93L.
41L, 67N, 74V, 101R, 118I, 184V, 210W, 215Y, 333E, 10I, 20I, 24I, 36I, 43T, 46I, 54V, 62V, 63P, 71V, 74A, 82S, 93L.
69D, 70R, 98G, 101E, 118I, 181C, 184V, 190S, 215F, 219Q, 10I, 16E, 20M, 24I, 43T, 46I, 54V, 76V, 82A, 89M.
0R, 103N, 184V, 188L, 219Q, 13V, 20R, 35D, 36I, 41K, 60E, 63T, 89M.
98S, 184V, 30N, 63P, 77I, 88D, 93L.

67N, 118I, 210W, 215Y, 219N, 13V, 20T, 30N, 35D, 36I, 63P, 71V, 88D, 93M.
70R, 181C, 184V, 219Q, 63P,
103N, 108I, 184V, 35D, 36I, 41K.
41L, 67N, 70R, 75M, 101Q, 179I, 184V, 190S, 215F, 219Q, 35D, 41K, 63Q.
103N, 184V, 215Y, 10F, 20T, 30N, 62V, 63P, 63T, 71V, 77I, 88D.
70R, 90I, 184V, 333E, 13V, 20R, 30N, 35D, 63P, 71T, 88D.
41L, 67N, 98G, 103N, 184V, 215Y, 10F, 30N, 35D, 35G, 36I, 41K, 63P, 88D.
70R, 179I, 184V, 10F, 13V, 30N, 35D, 36L, 41K, 62V, 88D.
184V, 10I, 20I, 46I, 63P, 74S, 77I, 90M, 93L.
67N, 70R, 103N, 106M, 118I, 179I, 215F, 219Q, 20T, 35D, 36I, 63P, 71T, 90M.
41L, 101P, 103S, 184V, 215Y, 225H, 62V, 63P.
41L, 98S, 103N, 108I, 118I, 184V, 210W, 215Y, 227L, 13V, 30N, 33F, 62V, 63P, 77I, 88D.
41L, 184V, 215F, 215Y, 41K.
41L, 103R, 179D, 184V, 188L, 210W, 215Y, 10I, 41K, 46I, 54V, 60E, 62V, 63P, 71V, 76V, 82A, 90M, 91S, 93L.
103N, 13V, 16E, 77I.
67N, 68G, 70R, 103N, 108I, 184V, 215I, 219E, 62V, 63P.
103N, 35D, 36I, 41K, 77I, 89M.
67N, 70R, 98S, 184V, 219Q, 10I, 71V, 73S, 77I, 90M.
41L, 74I, 101P, 103N, 118I, 184V, 215Y, 10I, 13V, 20R, 32I, 35D, 36I, 43T, 46I, 54V, 62V, 63P, 71V, 73S, 82F, 90M, 93L.
103N, 10I, 35D, 77I, 36I, 41K, 63S, 93L.
41L, 103N, 118I, 215F, 10I, 20R, 35D, 36I, 41K, 46I, 47V, 53L, 54V, 62V, 63P, 71V, 82A, 90M.
41L, 184V, 215Y, 30N, 41K, 63P, 77I, 88D, 93L.
62V, 63P, 63S.
65R, 67G, 101E, 181C, 219E, 190S, 63P.
184V, 30N, 36I.
41L, 75M, 179I, 184V, 210W, 215Y, 10I, 20R, 33F, 35D, 36L, 46I, 54A, 58E, 60E, 62V, 63P, 74S, 82A, 83D, 103N, 108I, 184V, 215Y, 10I, 24I, 35D, 46L, 63P, 71T, 82A,
67N, 70R, 184V, 215I, 219Q, 13V, 35D, 36I, 41K.
10V, 36I, 62V.
103N, 108I, 184V, 41K, 62V, 63A, 77I, 93L.
41L, 98G, 103R, 108I, 179D, 184V, 190A, 16A, 20R, 35D, 36I, 36V, 54V, 58E, 62V, 63T, 71V, 82S, 90M, 93L.
67N, 67D, 70R, 103N, 184V, 219E, 35D, 62V, 63S, 71V, 77I, 93L.
101P, 103N, 210W, 215F, 16E, 20M, 35D, 36I, 41K, 46L, 54V, 63S, 82A, 90M.
67N, 70R, 90I, 103N, 179I, 184V, 219Q, 35D, 41K, 62V, 63P, 71V, 77I, 93L.
68G, 70R, 103N, 108I, 184V, 210W, 215C, 215Y, 219E, 10F, 34Q, 36I, 54V, 60E, 63P.
41L, 70R, 75M, 103N, 106M, 118I, 184V, 188C, 215C, 215F, 219Q, 16E, 35D, 36I,

41K, 45R, 77I, 89M.
41L, 103N, 184V, 188H, 188L, 230L, 35D, 36I, 41K, 63C.
41L, 118I, 215F, 41K.
41L, 184V, 215Y, 10F, 13V, 16E, 20T, 30N, 41K, 45R, 62V, 63H, 74S, 77I, 88D, 93L.
101R, 106I, 181C, 184V, 236L, 10V, 35D, 36I, 41K.
41L, 103N, 184V, 210W, 215Y, 35D, 41K, 43R, 63A, 71V, 77I, 93L.
67N, 70R, 98S, 103N, 184V, 190A, 219Q, 30N, 33V, 71V, 88D, 93L.
41L, 68G, 184V, 210W, 215Y, 10F, 10Y, 13V, 33I, 35D, 41K, 62V, 63P, 71T, 84V, 90M, 93L.
67N, 184V, 10V, 36L, 43T, 45R, 46L, 54V, 62V, 63P, 71V, 73S, 82A, 90M, 93L.
69N, 179I, 184V, 190A, 35D, 36I, 41K, 60E, 89M.
67N, 70R, 184V, 219Q, 35D, 93L.
103N, 184V, 35D, 43T, 63P, 71T.
67N, 184V, 219Q, 10I, 20R, 24I, 35D, 36I, 46L, 54V, 63P, 71V, 82A, 93L.
69N, 70R, 184V, 13V, 20M, 41K, 63P.
41L, 101Q, 103N, 184V, 225H, 10I, 16E, 45R, 62V, 63P, 77I, 90M, 93L.

APÊNDICE B – Lista de mutações apresentadas pelos 81 pacientes que apresentaram lesões orais classificados segundo o tipo de lesão

Manifestações virais
210S, 62V, 63P, 77I, 93L.
69N, 181C, 190A, 98S, 151M, 70R, 108I, 184V, 215F, 101Q, 219Q, 10I, 20M, 62V, 74A, 43T, 13V, 48V, 54V, 36I, 63P, 84V, 82A.
41L, 67N, 69D, 103N, 108I, 184V, 10I, 20R, 35D, 36I, 41K, 54V, 58E, 63C, 71V, 77I, 84V, 90M, 93L.
67N, 69A, 69D, 184V, 190A, 188H, 215Y, 219N.
184V, 10I, 30N, 62V, 63S, 71V, 77I, 88D.
41L, 44D, 67N, 101Q, 118I, 184V, 210W, 215Y, 10I, 35D, 36I, 46I, 60E, 63P, 73T, 84V, 90M.
41L, 98S, 184V, 215Y, 10I33F, 41K, 46L, 54V, 63P, 71V, 73S.
103N, 210W, 215Y, 20I, 35D, 36I, 63P, 82I, 90M.
41L, 75M, 77L, 103N, 184V, 210W, 215Y, 35D, 63P.
184V, 210W, 215Y, 16E, 36L, 10I, 33F, 73S, 20R, 62V, 63T, 35D, 71V, 13V, 45R, 54V, 74S, 90M, 82A, 93L.
41L, 44D, 67N, 118I, 184V, 215Y, 10F, 13V, 46I, 47V, 54V, 63P, 71V, 84V, 89V, 93L.
70R, 103R, 106A, 179D, 184V, 215I, 219Q, 225H, 13V.
Manifestações bacterianas
41L, 44D, 67N, 98G, 184V, 188L, 210W, 215Y, 219N, 10F, 10I, 11I, 13V, 20I, 33V, 36I, 46L, 54V, 58E, 62V, 63P, 71V, 73S, 82A, 89V, 90M.
41L, 44D+X18, 67N, 74I, 98S, 103N, 184V, 210W, 215Y, 225H, 41K, 63P.
41L, 44D, 100I, 103N, 103S, 179I, 184V, 210W, 215Y, 219N, 10I, 20I, 24I, 35D, 36I, 45R, 54V, 62V, 63P, 71V, 73S, 82A.
65R, 103N, 184V, 10I, 36I, 33F, 50V, 20R, 63P, 35D, 82A, 54T, 48V.
69S, 101P, 101Q, 103R, 103S, 215C, 20R, 36I, 77I, 93L.
179D, 35D, 63A, 63P, 71T, 77I, 93L.
67N, 70R, 103N, 184V, 219Q, 333E, 10V, 20R, 35D, 36I, 41K, 46I, 47V, 53L, 54V, 82A, 89M.
184V, 10I, 35D, 41K, 46I, 54V, 58E, 62V, 63P, 82F, 90M, 93L.
41L, 67N, 184V, 210W, 215Y, 13V, 30N, 35D, 41K, 62V, 63P, 71T, 88D, 93L.
41L, 44D, 103N, 108I, 118I, 184V, 210W, 215Y, 13V, 63P.
67N, 67D, 215Y, 41K, 77I.

103N, 184V, 215Y, 10F, 41K, 47V, 46I, 63P, 71T, 76V.
Manifestações fúngicas
41L, 67N, 75M, 118I, 181C, 184V, 190A, 210W, 215Y, 219N, 10F, 13V, 20R, 30N, 33F, 35D, 36I, 46I, 54Y, 58E, 63P, 71V, 84V.
67G, 69D, 100I, 103N, 70G, 184V, 10I, 58E, 60N, 62V, 54L, 54M, 71I, 46I, 63P, 77I, 88S, 90M, 93L.
33I, 63P, 93L.
188L, 184V, 179I, 215F, 190A, 10V, 20R, 35D, 36I, 41K, 53L, 63P, 74S, 77I, 93L.
41L, 44D, 69N, 181C, 184V, 190C, 190S, 210W, 215Y, 32I, 10V, 20R, 35D, 36I, 46I, 47V, 54V, 58E, 60E, 62V, 63P, 71V, 82A, 90M, 93L.
13V, 35D, 43R, 63P.
75L, 103N, 108I, 184V, 210S, 215F, 219Q, 230L, 43R, 63P.
41L, 101L, 103N, 108I, 184V, 215I, 219Q, 35D, 63P, 77I, 93L.
67N, 69N, 70R, 98G, 74I, 75A, 118I, 184V, 215V, 219Q, 10I, 20R, 33F, 35D, 36I, 58E, 62V, 63P, 71V, 73S, 84V, 90M.
44D, 74I, 75A, 90I, 101Q, 103N, 184V, 210W, 215Y, 225H, 20R, 63P, 77I.
67N, 70R, 118I, 184V, 215F, 219E, 10I, 20R, 32I, 35D, 36I, 41K, 45R, 46I, 47V, 54A, 62V, 63V, 71A, 82A, 89M, 93L.
41L, 44D, 67D, 74V, 98S, 100I, 103N, 118I, 184V, 210W, 219N, 215Y, 10V, 20M, 36I, 46I, 54A, 54T, 54V, 62V, 63H, 63P, 63T, 71V, 74A, 84V.
103N, 179I, 13V, 16E, 63S, 77I.
41L, 74V, 100I, 103N, 215Y, 35D, 46L, 10I, 62V, 71V, 74P, 13V, 54V, 71I, 74S, 36I, 63P, 84V, 90M, 93L.
118I, 103R, 62V, 10V, 77I.
103N, 184V, 225H, 63P, 77I.
41L, 98S, 103N, 184V, 210W, 215Y, 35D, 36I, 60E, 63P.
333Y, 20R, 13V, 74S, 63P, 77I, 88D, 93L.
67N, 70R, 69N, 103N, 74I, 215F, 118I, 181C, 219Q, 190A, 33F, 20R, 62V, 41K, 63A, 35D, 54V, 36I, 46I, 76V, 90M, 82A.
67N, 70R, 103R, 118I, 179D, 184V, 215F, 219E, 13V, 41K, 63P.
41L, 44D, 98S, 118I, 179I, 184V, 210W, 215Y, 219N, 10F, 13V, 20M, 33F, 35G, 36I, 46L, 54L, 62V, 63P, 71V, 71I, 74P, 84V, 90Y, 93M.
41L, 44D, 118I, 184V, 210W, 215Y, 10I, 13V, 20R, 30N, 33I, 35D, 36I, 46I, 50L, 53L, 62V, 63P, 63Q, 63T, 71V, 71I, 74S, 82A, 88D.
41L, 44D, 118I, 184V, 210W, 215Y, 10I, 13V, 33V, 63P, 71T, 71V.
41L, 69N, 103N, 108I, 118I, 184V, 215F, 63P, 93L.
41L, 67N, 69D, 74D, 74V, 103N, 184V, 210W, 215Y, 10F, 71V, 46I, 50V, 63P, 90M, 82A.
41L, 67N, 70R, 74V, 98G, 101H, 106I, 108I, 181C, 184V, 215F, 219Q, 10I, 13V, 33F, 35D, 46I, 47V, 54S, 60E, 62V, 63P, 71V, 82F, 89V, 90M.
184V, 16E, 62V, 63H, 77I.

41K, 63P.
67N, 100I, 151M, 219Q, 70G, 103N, 184V, 35D, 36I, 77I, 82I, 89M.
184V, 10F, 32I, 33F, 41K, 43T, 46I, 47V, 53L, 54M, 60E, 63P, 71V, 82A, 90M.
41L, 75L, 103N, 106M, 184V, 215Y, 36I, 62V, 63P.
184V, 36I, 46L, 71V.
67G, 101Q, 103N, 108I, 184V, 36I, 62V, 63P, 82I.
103S, 106I, 108I, 184V, 20R, 35D, 36I, 41K, 89M.
67N, 67D, 70R, 103N, 184V, 225H, 10I, 13V, 16A, 35D, 36I, 89M.
103N, 184V, 35D, 36I, 63P, 63S.
41L, 67N, 70R, 184V, 215Y, 219Q, 333E, 33V, 35D, 41K, 63H.
41L, 74V, 100I, 103N, 184V, 215Y, 13V, 35D, 36I, 62V.
184V, 63C.
184V, 333E, 77I.
41L, 184V, 210W, 215Y, 10I, 16A, 20R, 32I, 33F, 35D, 36L, 43T, 46I, 53L, 53Y, 62V, 63T, 71V, 74A, 82A, 84V, 93L.
39A, 39T, 68G, 122K, 123E, 135T, 138A, 196E, 245M, 245V, 65R, 69I, 69T, 70I, 184V, 98S, 101A, 179I, 188I, 36I, 36M, 41K, 57K, 60E, 63P, 71T.
35D, 63P.
41L, 68G, 184V, 219E, 215Y, 30N, 46I, 46V, 63P, 77I, 88D.
41L, 101H, 179I, 190A, 215Y, 44D, 116I, 184V, 210W, 41K, 62V, 63P.
103R, 179D, 184V, 215F, 230L, 13V, 33V, 89M.
103N, 184V, 215Y, 230L.
184V, 10I, 20R, 35D, 36I, 41K, 54V, 63P.
41L, 103N, 215Y, 10I, 41K, 71T, 35D, 45R, 36I, 63P.
41L, 67N, 103N, 108I, 184V, 210W, 215Y, 36I, 41K.
67N, 69N, 70R, 184V, 219Q, 333E, 20I, 36V, 62V, 74S, 90M.
Diversas manifestações
41L, 67N, 184V, 215D, 13V, 63P, 77I.
68G, 103N, 184V, 215Y, 10I.
41L, 106A, 227L, 184V, 215Y, 227L, 36I, 89M.
41L, 44D, 67N, 106I, 118I, 210W, 215Y, 10I, 41K, 46I, 47V, 58E, 62V, 71V, 77I, 82F, 90M, 93L.
41L, 74I, 184V, 190Y, 210W, 215Y, 10I, 36I, 41K, 46L, 54V, 63P, 71V.
67N, 69N, 70R, 98G, 118I, 184V, 215I, 219E, 10I, 20R, 33F, 35D, 36I, 43T, 46I, 54V, 62V, 63P, 71T, 73S, 77I, 82A, 84V.

APÊNDICE C – Prevalência das mutações apresentadas pelos pacientes segundo o tipo de lesão oral

BACTERIANAS

Ordem	Mutação	N	% em Pacientes (N = 12)	% em Ocorrências (N = 155)
1	184V	9	75,00%	5,70%
2	63P	9	75,00%	5,70%
3	215Y	7	58,33%	4,43%
4	103N	6	50,00%	3,80%
5	35D	6	50,00%	3,80%
6	41K	6	50,00%	3,80%
7	210W	5	41,67%	3,16%
8	36I	5	41,67%	3,16%
9	41L	5	41,67%	3,16%
10	67N	5	41,67%	3,16%
11	10I	4	33,33%	2,53%
12	44D	4	33,33%	2,53%
13	54V	4	33,33%	2,53%
14	62V	4	33,33%	2,53%
15	82A	4	33,33%	2,53%
16	93L	4	33,33%	2,53%
17	13V	3	25,00%	1,90%
18	20R	3	25,00%	1,90%
19	46I	3	25,00%	1,90%
20	71T	3	25,00%	1,90%
21	77I	3	25,00%	1,90%

22	103S	2	16,67%	1,27%
23	10F	2	16,67%	1,27%
24	20I	2	16,67%	1,27%
25	219N	2	16,67%	1,27%
26	47V	2	16,67%	1,27%
27	58E	2	16,67%	1,27%
28	71V	2	16,67%	1,27%
29	73S	2	16,67%	1,27%
30	90M	2	16,67%	1,27%
31	100I	1	8,33%	0,63%
32	101P	1	8,33%	0,63%
33	101Q	1	8,33%	0,63%
34	103R	1	8,33%	0,63%
35	108I	1	8,33%	0,63%
36	10V	1	8,33%	0,63%
37	118I	1	8,33%	0,63%
38	11I	1	8,33%	0,63%
39	179D	1	8,33%	0,63%
40	179I	1	8,33%	0,63%
41	188L	1	8,33%	0,63%
42	215C	1	8,33%	0,63%
43	219Q	1	8,33%	0,63%
44	225H	1	8,33%	0,63%
45	24I	1	8,33%	0,63%
46	30N	1	8,33%	0,63%
47	333E	1	8,33%	0,63%
48	33F	1	8,33%	0,63%
49	33V	1	8,33%	0,63%
50	45R	1	8,33%	0,63%
51	46L	1	8,33%	0,63%
52	48V	1	8,33%	0,63%
53	50V	1	8,33%	0,63%
54	53L	1	8,33%	0,63%

55	54T	1	8,33%	0,63%
56	63A	1	8,33%	0,63%
57	65R	1	8,33%	0,63%
58	67D	1	8,33%	0,63%
59	69S	1	8,33%	0,63%
60	70R	1	8,33%	0,63%
61	74I	1	8,33%	0,63%
62	76V	1	8,33%	0,63%
63	82F	1	8,33%	0,63%
64	88D	1	8,33%	0,63%
65	89M	1	8,33%	0,63%
66	89V	1	8,33%	0,63%
67	98G	1	8,33%	0,63%
68	98S	1	8,33%	0,63%

FÚNGICAS

Ordem	Mutação	N	% em Pacientes (N = 57)	% em Ocorrências (N = 699)
1	184V	46	80,70%	6,58%
2	63P	36	63,16%	5,15%
3	36I	26	45,61%	3,72%
4	41L	24	42,11%	3,43%
5	215Y	23	40,35%	3,29%
6	35D	23	40,35%	3,29%
7	103N	22	38,60%	3,15%
8	62V	20	35,09%	2,86%
9	10I	15	26,32%	2,15%
10	41K	15	26,32%	2,15%
11	67N	15	26,32%	2,15%
12	71V	15	26,32%	2,15%
13	77I	15	26,32%	2,15%

14	13V	14	24,56%	2,00%
15	210W	14	24,56%	2,00%
16	46I	14	24,56%	2,00%
17	118I	13	22,81%	1,86%
18	20R	13	22,81%	1,86%
19	93L	11	19,30%	1,57%
20	90M	10	17,54%	1,43%
21	70R	9	15,79%	1,29%
22	215F	8	14,04%	1,14%
23	219Q	8	14,04%	1,14%
24	33F	8	14,04%	1,14%
25	44D	8	14,04%	1,14%
26	82A	8	14,04%	1,14%
27	108I	7	12,28%	1,00%
28	54V	7	12,28%	1,00%
29	84V	7	12,28%	1,00%
30	69N	6	10,53%	0,86%
31	89M	6	10,53%	0,86%
32	100I	5	8,77%	0,72%
33	179I	5	8,77%	0,72%
34	47V	5	8,77%	0,72%
35	58E	5	8,77%	0,72%
36	60E	5	8,77%	0,72%
37	74S	5	8,77%	0,72%
38	74V	5	8,77%	0,72%
39	10F	4	7,02%	0,57%
40	10V	4	7,02%	0,57%
41	181C	4	7,02%	0,57%
42	190A	4	7,02%	0,57%
43	219E	4	7,02%	0,57%
44	32I	4	7,02%	0,57%
45	46L	4	7,02%	0,57%
46	53L	4	7,02%	0,57%
47	71I	4	7,02%	0,57%

48	71T	4	7,02%	0,57%
49	74I	4	7,02%	0,57%
50	98S	4	7,02%	0,57%
51	103R	3	5,26%	0,43%
52	106I	3	5,26%	0,43%
53	219N	3	5,26%	0,43%
54	225H	3	5,26%	0,43%
55	230L	3	5,26%	0,43%
56	30N	3	5,26%	0,43%
57	333E	3	5,26%	0,43%
58	33V	3	5,26%	0,43%
59	43T	3	5,26%	0,43%
60	63H	3	5,26%	0,43%
61	63T	3	5,26%	0,43%
62	68G	3	5,26%	0,43%
63	88D	3	5,26%	0,43%
64	98G	3	5,26%	0,43%
65	101Q	2	3,51%	0,29%
66	101H	2	3,51%	0,29%
67	16A	2	3,51%	0,29%
68	16E	2	3,51%	0,29%
69	179D	2	3,51%	0,29%
70	20M	2	3,51%	0,29%
71	215I	2	3,51%	0,29%
72	227L	2	3,51%	0,29%
73	33I	2	3,51%	0,29%
74	43R	2	3,51%	0,29%
75	45R	2	3,51%	0,29%
76	54A	2	3,51%	0,29%
77	54L	2	3,51%	0,29%
78	54M	2	3,51%	0,29%
79	63S	2	3,51%	0,29%
80	67D	2	3,51%	0,29%
81	67G	2	3,51%	0,29%
82	69D	2	3,51%	0,29%
83	70G	2	3,51%	0,29%
84	73S	2	3,51%	0,29%

85	74A	2	3,51%	0,29%
86	74P	2	3,51%	0,29%
87	75A	2	3,51%	0,29%
88	75L	2	3,51%	0,29%
89	82F	2	3,51%	0,29%
90	82I	2	3,51%	0,29%
91	101A	1	1,75%	0,14%
92	101L	1	1,75%	0,14%
93	103S	1	1,75%	0,14%
94	106A	1	1,75%	0,14%
95	106M	1	1,75%	0,14%
96	116I	1	1,75%	0,14%
97	122K	1	1,75%	0,14%
98	123E	1	1,75%	0,14%
99	135T	1	1,75%	0,14%
100	138A	1	1,75%	0,14%
101	151M	1	1,75%	0,14%
102	188I	1	1,75%	0,14%
103	188L	1	1,75%	0,14%
104	190C	1	1,75%	0,14%
105	190S	1	1,75%	0,14%
106	190Y	1	1,75%	0,14%
107	196E	1	1,75%	0,14%
108	20I	1	1,75%	0,14%
109	210S	1	1,75%	0,14%
110	215D	1	1,75%	0,14%
111	215V	1	1,75%	0,14%
112	245M	1	1,75%	0,14%
113	245V	1	1,75%	0,14%
114	333Y	1	1,75%	0,14%
115	35G	1	1,75%	0,14%
116	36L	1	1,75%	0,14%
117	36M	1	1,75%	0,14%
118	36V	1	1,75%	0,14%
119	39A	1	1,75%	0,14%
120	39T	1	1,75%	0,14%
121	46V	1	1,75%	0,14%
122	50L	1	1,75%	0,14%
123	50V	1	1,75%	0,14%
124	53Y	1	1,75%	0,14%
125	54S	1	1,75%	0,14%
126	54T	1	1,75%	0,14%
127	54Y	1	1,75%	0,14%
128	57K	1	1,75%	0,14%

129	60N	1	1,75%	0,14%
130	63A	1	1,75%	0,14%
131	63C	1	1,75%	0,14%
132	63Q	1	1,75%	0,14%
133	63V	1	1,75%	0,14%
134	65R	1	1,75%	0,14%
135	69I	1	1,75%	0,14%
136	69T	1	1,75%	0,14%
137	70I	1	1,75%	0,14%
138	71A	1	1,75%	0,14%
139	74D	1	1,75%	0,14%
140	75M	1	1,75%	0,14%
141	76V	1	1,75%	0,14%
142	88S	1	1,75%	0,14%
143	89V	1	1,75%	0,14%
144	90I	1	1,75%	0,14%
145	90Y	1	1,75%	0,14%
146	93M	1	1,75%	0,14%

VIRAIS

Ordem	Mutação	N	% em Pacientes (N = 12)	% em Ocorrências (N = 155)
1	184V	10	83,33%	6,45%
2	215Y	7	58,33%	4,52%
3	63P	7	58,33%	4,52%
4	10I	6	50,00%	3,87%
5	35D	5	41,67%	3,23%
6	41L	5	41,67%	3,23%
7	54V	5	41,67%	3,23%
8	71V	5	41,67%	3,23%
9	13V	4	33,33%	2,58%
10	210W	4	33,33%	2,58%
11	36I	4	33,33%	2,58%
12	62V	4	33,33%	2,58%
13	67N	4	33,33%	2,58%

14	84V	4	33,33%	2,58%
15	90M	4	33,33%	2,58%
16	93L	4	33,33%	2,58%
17	103N	3	25,00%	1,94%
18	77I	3	25,00%	1,94%
19	101Q	2	16,67%	1,29%
20	108I	2	16,67%	1,29%
21	118I	2	16,67%	1,29%
22	190A	2	16,67%	1,29%
23	20R	2	16,67%	1,29%
24	219Q	2	16,67%	1,29%
25	33F	2	16,67%	1,29%
26	41K	2	16,67%	1,29%
27	44D	2	16,67%	1,29%
28	46I	2	16,67%	1,29%
29	69D	2	16,67%	1,29%
30	70R	2	16,67%	1,29%
31	73S	2	16,67%	1,29%
32	82A	2	16,67%	1,29%
33	98S	2	16,67%	1,29%
34	103R	1	8,33%	0,65%
35	106A	1	8,33%	0,65%
36	10F	1	8,33%	0,65%
37	151M	1	8,33%	0,65%
38	16E	1	8,33%	0,65%
39	179D	1	8,33%	0,65%
40	181C	1	8,33%	0,65%
41	188H	1	8,33%	0,65%
42	20I	1	8,33%	0,65%
43	20M	1	8,33%	0,65%
44	210S	1	8,33%	0,65%
45	215F	1	8,33%	0,65%
46	215I	1	8,33%	0,65%
47	219N	1	8,33%	0,65%

48	225H	1	8,33%	0,65%
49	30N	1	8,33%	0,65%
50	36L	1	8,33%	0,65%
51	43T	1	8,33%	0,65%
52	45R	1	8,33%	0,65%
53	46L	1	8,33%	0,65%
54	47V	1	8,33%	0,65%
55	48V	1	8,33%	0,65%
56	58E	1	8,33%	0,65%
57	60E	1	8,33%	0,65%
58	63C	1	8,33%	0,65%
59	63S	1	8,33%	0,65%
60	63T	1	8,33%	0,65%
61	69A	1	8,33%	0,65%
62	69N	1	8,33%	0,65%
63	73T	1	8,33%	0,65%
64	74A	1	8,33%	0,65%
65	74S	1	8,33%	0,65%
66	75M	1	8,33%	0,65%
67	77L	1	8,33%	0,65%
68	82I	1	8,33%	0,65%
69	88D	1	8,33%	0,65%
70	89V	1	8,33%	0,65%

ANEXO A - Folha de Aprovação do CEP

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
Coordenadoria de Controle de Doenças
Centro de Referência e Treinamento DST/Aids
Rua Santa Cruz, 81 – Vila Mariana – São Paulo – SP
CEP 04121-000 – Fone: 5087-9911

São Paulo, 24 de agosto de 2010.

Ofício CRT-DST/AIDS – CEP n.º 80/2010

PROTOCOLO CEP N° 015/2010: "Manifestações Bucais Oportunistas da Imunodepressão Causada pelo HIV e sua Possível Relação com as Mutações Encontradas no Vírus".

- **Folha de Rosto**
- **Projeto**
- **Coleta de dados de prontuário**

Parecer: APROVADO

Prezado Investigador,

Após a análise dos documentos do estudo acima referidos, pelos membros deste Comitê, em reunião ordinária do dia 23 de agosto 2010, foi emitido parecer: **APROVADO**.

Conforme a Resolução CNS 196/96, solicitamos que sejam enviados relatórios anuais, a contar desta data, comunicando o CEP sobre o andamento do estudo.

Atenciosamente,

Eduardo Ronner Lagonegro
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
CRT-DST/AIDS

Ilma. Sra.
Dra. Catalina Riera Costa
Investigadora Principal

Assinatura
24.08.10
[Assinatura]