

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 17/02/2018.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA**  
**“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”**  
**FACULDADE DE MEDICINA**

**NATALIA MIRELE CANTÃO**

**Perfil de mutações e resistência do Vírus da  
Imunodeficiência Humana (HIV) em pacientes coinfectados  
com o Vírus da Hepatite B (VHB)**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra em Pesquisa e Desenvolvimento: Biotecnologia Médica.

Orientadora: Profa. Dra. Rejane Maria Tommasini Grotto

**Botucatu**  
**2016**

NATALIA MIRELE CANTÃO

Perfil de mutações e resistência do Vírus da  
Imunodeficiência Humana (HIV) em pacientes  
coinfectedados com o Vírus da Hepatite B (VHB)

Dissertação apresentada à Faculdade de  
Medicina, Universidade Estadual Paulista  
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de  
Botucatu, para obtenção do título de  
Mestra em Pesquisa e Desenvolvimento:  
Biotecnologia Médica.

Orientadora: Profa. Dra. Rejane Maria Tommasini Grotto

Botucatu  
2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Cantão, Natalia Mirele.

Perfil de mutações e resistência do Vírus da  
Imunodeficiência Humana (HIV) em pacientes coinfectados  
com o Vírus da Hepatite B (VHB) / Natalia Mirele Cantão. -  
Botucatu, 2016

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista  
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de  
Botucatu

Orientador: Rejane Maria Tommasini Grotto  
Capes: 20804008

1. HIV (Vírus). 2. Coinfecção. 3. Mutação (Biologia).  
4. Hepatite por vírus. 5. Hepatite C. 6. Hepatite B.

Palavras-chave: Coinfecções; HIV; Mutação; VHB; VHC.


NATÁLIA MIRELE CANTÃO

Perfil de mutações e resistência do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) em  
pacientes coinfectedados com o Vírus da Hepatite B (VHB)

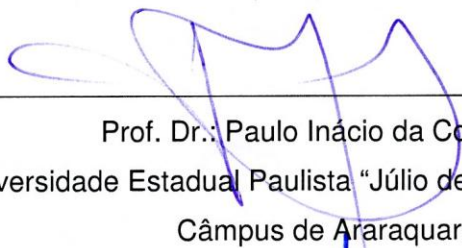
Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista  
"Júlio de Mesquita Filho", Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestra  
em Pesquisa e Desenvolvimento: Biotecnologia Médica

Orientadora: Profa. Dra. Rejane Maria Tommasini Grotto

Comissão examinadora



Profa. Dra.: Rejane Maria Tommasini Grotto  
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"  
Câmpus de Botucatu



Prof. Dr.: Paulo Inácio da Costa  
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/  
Câmpus de Araraquara



Prof. Dr.: Alexandre Naime Barbosa  
Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho"/  
Câmpus de Botucatu

Botucatu, 17 de Fevereiro de 2016

*Dedicatória*

*Dedico este trabalho a minha mãe  
Télma, aos meus avós, Neusa e Augusto  
(in memoriam), e ao meu irmão,  
Giovani.*

# *Agradecimientos*



À Deus, por sempre me conduzir no caminho certo, me dando força e discernimento para enfrentar os desafios de cada dia.

À minha mãe Telma, minha fortaleza. Obrigada pelo apoio em qualquer que fosse o caminho escolhido por mim.

Ao meu namorado Gustavo, pela compreensão nos momentos de estudo e pelo apoio nas minhas decisões profissionais.

À minha orientadora, Profa. Dra. Rejane Maria Tommasini Grotto, pela educação científica, paciência e amizade por todos esses anos e, principalmente, por ter acreditado no meu potencial desde o princípio, obrigada por tudo.

À Profa. Dra. Maria Inês de Moura Campos Pardini, pela oportunidade, motivação e confiança depositada ao longo desses anos.

À Profa. Dra. Patrícia Carvalho Garcia, um exemplo profissional. Obrigada por dar abertura ao meu caminho acadêmico e pelas inúmeras oportunidades e ensinamentos durante a graduação.

À equipe do Laboratório de Rotina Diagnósticas em Biologia Molecular do Hemocentro de Botucatu, Maércio, Sarita, Regina e as aprimorandas Natália, Renata, Francine e Bianka, pela boa vontade em me ajudar e, acima de tudo pelo companheirismo e amizade.

À todas as colegas do laboratório de Pesquisa em Biologia Molecular do Hemocentro de Botucatu, pelo apoio e ajuda durante minha passagem por Botucatu. Agradeço em especial a Aline Tanikawa e Aline Galvani pela grande amizade e companheirismo.

As alunas de Iniciação Científica Caroline e Francielle, pela disponibilidade e ajuda com os TCLE.

As minhas colegas de kit, Aline Del' Vescovo e Viviam, pela amizade e pelos momentos compartilhados, que sempre levarei comigo.

Ao meu amigo Luiz Gustavo Munhoz, pelos grandes ensinamentos com as técnicas de Biologia Molecular e por sempre acreditar em mim.

A equipe do SAE de Infectologia “Domingos Alves Meira”, principalmente ao Dr. Alexandre Naime Barbosa e Dr. João Paulo Vasconcelos, pelas valiosas contribuições para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Guilherme Targino Valente do Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia, da Faculdade de Ciências Agrônomicas de Botucatu e à aluna de iniciação científica Lauana Fogaça, pelas análises filogenéticas realizadas neste estudo.

Ao Hemonúcleo e Hemovida de Bauru, pela compreensão devido a minha ausência para a finalização do mestrado.

À todos os pacientes que concordaram em participar deste trabalho, sem eles nada seria possível.

Enfim, minha profunda gratidão a todos que contribuíram de alguma forma para a conclusão de mais uma etapa de minha vida. Obrigada a todos!

*Epígrafe*

*“Sou um pouco de todos que conheci,  
um pouco dos lugares que fui,  
um pouco das saudades que deixei,  
sou muito das coisas que gostei.  
Entre umas e outras erreí,  
entre muitas e outras conquistei”.*

*(Ramon Hasman)*

# *Prefácio*

*Com imensa alegria e prazer utilizo este breve espaço para prefaciá a Dissertação de Mestrado de Natália Mirele Cantão.*

*Ainda durante sua graduação em Biomedicina, a Natália chega ao Laboratório de Biologia Molecular, Hemocentro de Botucatu, Faculdade de Medicina, Unesp em busca de oportunidades que pudessem enriquecer e contribuir para sua formação. A Natália ainda não sabia, mas sua iniciativa de deixar sua cidade, família, amigos para se mudar para Botucatu naquele momento, constituiria o primeiro passo rumo ao seu crescimento acadêmico-científico.*

*Assim, agora no Laboratório de Biologia Molecular do Hemocentro de Botucatu ela realiza seu treinamento teórico-prático e, pouco tempo depois inicia, formamente, seu primeiro contato com o desenvolvimento da pesquisa; sua iniciação científica.*

*Já nos primeiros meses em que esteve no Laboratório demonstra imensa dedicação, pró-atividade, espírito de equipe e comprometimento não somente com a pesquisa, mas com todo o serviço que o Laboratório de Biologia Molecular realiza para a comunidade.*

*O tempo passa e, em menos de um ano a Natália finaliza sua iniciação científica com sucesso e, ao mesmo tempo se forma Biomédica.*

*No ano seguinte, agora com maior bagagem técnico-científica, a Natália ingressa no Programa de Aprimoramento Profissional em Inovação Tecnológica e Diagnóstico Laboratorial, o qual é realizado no Laboratório de Biologia Molecular do Hemocentro com a finalidade de aprendizado em serviço nas rotinas de acompanhamento das infecções pelo Vírus HIV, Vírus da Hepatite C (VHC) e Vírus da Hepatite B (VHB).*

*Nesse momento, com as novas atribuições para aprendizado, voltando-se agora às rotinas diagnósticas a Natália se consolida como ótima profissional, demonstrando afinidade e responsabilidade com o serviço, seus colegas, pacientes e profissionais.*

*A medida que o primeiro ano de seu aprimoramento chega ao fim, a Natália só reforça o seu perfil já demonstrado durante sua iniciação científica, necessário ao meio acadêmico e, em meio a toda essa correria do dia-a-dia ela ingressa no Mestrado.*

*O tempo passa e, a Natália desenvolve seu trabalho de mestrado com grande destreza, comprometimento, maturidade científica; ..... nunca deixar de atuar junto às rotinas diagnósticas.*

*Assim, devido ao perfil da Natália, associado ao ideal de formação cultivado pelo Laboratório de Biologia Molecular do Hemocentro de Botucatu ela desenvolve seu Mestrado dentro de uma linha de pesquisa, consolidando sua formação acadêmica.*

*Neste cenário, em caráter formal, aqui apresenta-se a parte mensurável gerada pelo Mestrado da Natália. Digo mensurável porque não são disponíveis métricas suficientes para apresentar o aprendizado, a dedicação, o comprometimento, o trabalho em equipe e, o crescimento científico da Natália durante este período.*

*Desta forma, esta dissertação de Mestrado se subdivide em capítulos: (I) Introdução: descrição breve dos conceitos e conhecimentos básicos necessários para o leitor compreender os artigos aqui apresentados; (II) Artigo: Mutações de resistência na protease e transcriptase reversa do HIV-1 em pacientes coinfectados com os Vírus da Hepatite C (VHC) e Hepatite B (VHB); (III) Artigo: Human Platelets Antigens (HPA) influences the viral load platelets after HCV and HIV-platelet interaction in vitro, artigo submetido à*

*Revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz; (IV) Artigo: Polimorfismos dos sistemas HPA -1, -3 e -5 e a evolução da infecção pelo HIV.*

*Embora tenha consciência de que este modelo para apresentação de uma dissertação de Mestrado ainda seja, por mais estranho que me pareça, pouco convencional, tenho certeza que ele é capaz de demonstrar a dinâmica, a interface pesquisa-assistência e, a competência necessária para fornecer ao aluno o título de Mestre.*

*Tenho certeza que a Natália parte hoje do Laboratório de Biologia Molecular do Hemocentro de Botucatu, com uma imensa bagagem científica e profissional.*

*Encerro este prefácio com a certeza do dever cumprido e, a tranquilidade de que você, Natália, contará com uma carreira de sucesso, repleta de conquistas.*

*Rejane*



*Resumo*

**CANTÃO, N. M. Perfil de mutações e resistência do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) em pacientes coinfectados com o Vírus da Hepatite B (VHB). 2016.**

A infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) representa um grave problema de saúde pública no mundo. A evolução clínica desta infecção é composta por amplo espectro de modificações clínicas e virais. A presença de coinfeções virais e de polimorfismos genéticos do hospedeiro são alguns dos fatores que podem interferir na dinâmica viral em cada indivíduo infectado. Neste sentido, o objetivo dessa dissertação foi estudar o perfil genético do HIV em coinfeções com o Vírus da Hepatite B (VHB) ou Vírus da Hepatite C (VHC) e o comportamento do HIV frente a polimorfismos dos Antígenos Plaquetários Humanos (HPAs). Desta forma, a dissertação foi dividida em capítulos: capítulo I, introdução - descrição breve dos conceitos e conhecimentos básicos necessários para a compreensão dos artigos aqui apresentados; capítulo II, artigo 1 - Mutações de resistência na protease e transcriptase reversa do HIV-1 em pacientes coinfectados com os Vírus da Hepatite C (VHC) e Hepatite B (VHB); capítulo III, artigo 2 - Human Platelets Antigens (HPA) influences the viral load platelets after HCV and HIV-platelet interaction in vitro, artigo submetido à Revista Memórias do Instituto Oswaldo Cruz; capítulo IV, artigo 3 - Polimorfismos dos sistemas HPA -1, -3 e -5 e a evolução da infecção pelo HIV.

**Palavras-chave:** coinfeções, HIV, mutação, VHB, VHC

*Abstract*

**CANTÃO, N. M. Profile mutation and resistance of Human Immunodeficiency Virus (HIV) in patients coinfecting with Hepatitis B Virus (HBV). 2016.**

The Human Immunodeficiency Virus (HIV) infection is a serious public health problem worldwide. The clinical course of this infection consists of wide range of clinical and viral modifications. The presence of viral coinfections and host genetic polymorphisms are some of the factors that can interfere with viral dynamics in each infected individual. In this sense, the aim of this thesis was to study the genetic profile of HIV coinfection with hepatitis B virus (HBV) or hepatitis C virus (HCV) and HIV opposite behavior with polymorphisms of Human Platelet Antigens (HPAs). Thus, the thesis was divided into chapters: Chapter I, Introduction - brief description of the concepts and skills necessary for the understanding of the articles presented here; Chapter II, Article 1 - resistance mutations in the protease and reverse transcriptase of HIV-1 in patients coinfecting with hepatitis C virus (HCV) and Hepatitis B (HBV); Chapter III, Article 2 - Human Platelets Antigens (HPA) influences the viral load platelets after HCV and HIV-platelet interaction in vitro, article submitted to the Journal Memórias do Instituto Oswaldo Cruz; Chapter IV, Article 3 - Polymorphisms of the HPA system -1, -3 and -5 and the evolution of HIV infection.

**Keywords:** co-infections, HIV, mutation, HBV, HCV

## *Lista de abreviaturas, siglas*

**HIV** = Vírus da Imunodeficiência Humana

**CDC**= Centers Disease Control and Prevention (Centros de Controle e Prevenção de Doenças)

**ICTV**= International Committee on Taxonomy Viruses (Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus)

**SIV**= Simian Immunodeficiency Vírus (Vírus da Imunodeficiência Símia)

**T CD4+** = Linfócitos T CD4+

**ICAM-1**= Intercellular Adhesion Molecule 1 (Molécula de Adesão Intercelular 1)

**DC-SIGN**= Dendritic Cell-Specific Intercellular Adhesion Molecule-3-Grabbing Non-integrin (Molécula de Adesão Intercelular Específica de Célula Dendrítica)

**CLEC-2**= C-Type Lectin-like Receptor 2 (Receptor de Lectina Tipo 2)

**HPA**= Human Platelet Antigens (Antígeno Plaquetário Humano)

**gp** = glicoproteína

**gag** = group-specific antigen (antígeno de grupo específico)

**pol** = polymerase (polimerase)

**env** = envelope

**PR** = Protease

**TR** = Transcriptase Reversa

**IN** = Integrase

**CRF** = Circulating Recombinant Forms (Formas Recombinantes Circulantes)

**SISCEL** = Sistema de Controle de Exames Laboratoriais

**SISGENO** = Sistema de Informação para Rede de Genotipagem

**FDA**= Food and Drug Administration

**ITRNs**= Inibidores de Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos

**ITRNNs**= Inibidores de Transcriptase Reversa Não Análogos de Nucleosídeos

**IPs**= Inibidores de Protease

**LTR** = Long Terminal Repeat (Repetição Terminal Longa)

**ARV** = Antirretrovirais

**ABC**= Abacavir

**ddl**= didanosina

**FTC**= Emtramicina

**3TC**= Lamivudina

**ddC**= zalcitabina

**AZT=** Zidovudina  
**TDF=** Tenofovir  
**ETV=** Etravirina  
**DLV=** Delavirdina  
**EFV=** Efavirenz  
**NVP=** Nevirapina  
**RPV=** Rilpirina  
**APV=** Amprenavir  
**AZT=** Atazanavir  
**TMC114=** Darunavir  
**FPV=** Fosamprenavir  
**IDV=** Indinavir  
**LPV=** Lopinavir  
**NFV=** Nelfinavir  
**RTV=** Ritonavir  
**SQV =** Saquinavir  
**TPV=** Tipranavir  
**IF=** Inibidor de Fusão  
**ICR=** Inibidor de Correceptor  
**T-20 =** Enfuvirtida  
**RENAGENO =** Rede Nacional de Genotipagem  
**TARV =** Terapia Antirretroviral  
**II=** Inibidores de Integrase  
**FDA =** Food and Drug Administration  
**HAART=** Highly Active Antiretroviral Therapy (Terapia Antirretroviral Altamente Ativa)  
**VHB=** Vírus da Hepatite B  
**VHC=** Vírus da Hepatite C  
**ORF=** Open Reading Frame (Região Aberta de Leitura)  
**IgM=** Imunoglobulina M  
**IgG=** Imunoglobulina G  
**ALT=** Alanina Transaminase  
**AST=** Aspartato Transaminase

## *Sumário*



<b>Capítulo I: Introdução</b> .....	23
1.1 Descoberta do HIV/AIDS .....	24
1.2 Origem evolutiva do HIV .....	24
1.3 Epidemiologia do HIV/AIDS .....	25
1.4 Infecção pelo HIV.....	26
1.4.1 Células alvo .....	26
1.4.2 Evolução Clínica .....	27
1.5 Estrutura e Genoma do HIV-1.....	28
1.6 Ciclo Replicativo do HIV-1 .....	30
1.7 Variabilidade genética.....	31
1.8 Monitoramento e Tratamento .....	32
1.9 Antirretrovirais.....	33
1.9.1 Classes de drogas .....	33
1.9.2 Terapia Antirretroviral Altamente Ativa (HAART).....	35
1.9.3 Falha terapêutica .....	36
1.9.4 Resistência aos antirretrovirais .....	36
1.9.5 Teste de genotipagem para resistência aos antirretrovirais .....	37
1.9.6 Mutações de resistência .....	38
1.10 Vírus da Hepatite B (VHB) .....	40
1.10.1 Epidemiologia do VHB .....	41
1.10.2 Evolução clínica da infecção pelo VHB .....	42
1.10.3 Tratamento da Infecção pelo VHB .....	43
1.11 Evolução da coinfeção HIV/VHB .....	44
REFERÊNCIAS .....	45
<b>Capítulo II: Artigo 1</b> .....	58
<b>Capítulo III: Artigo 2</b> .....	81
<b>Capítulo IV: Artigo 3</b> .....	94
ANEXOS.....	100

# *Capítulo I: Introdução*

Nos últimos anos o campo da biotecnologia tem gerado enormes avanços em resposta a epidemia da Infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), agente etiológico da aids. Embora a produção de novas metodologias de diagnóstico e tratamento proporciona melhor qualidade de vida aos pacientes, a aids continua sendo um dos grandes desafios mundiais à saúde (WHO, 2015a).

### **1.1 Descoberta do HIV/AIDS**

Em 1981 foi observado em diferentes grupos da população novos casos de doenças raras como candidíase das mucosas (*Candida albicans*), pneumonia (*Pneumocystis jirovecii*) e linfadenopatias persistentes generalizadas, que antes acometiam apenas pacientes imunodebilitados. O aumento de relatos de casos dessas doenças ao Centro de Controle e Prevenção de Doenças, do inglês, *Center for Disease Control and Prevention* (CDC), nos Estados Unidos, contribuiu para a definição da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) em inglês *Acquired Immunodeficiency Syndrome* (AIDS) (CDC, 1981; GOTTLIEB, 2006).

No período entre 1983 e 1984 o retrovírus causador da aids foi isolado e identificado em diferentes grupos de pesquisa. Em 1986, o retrovírus recebeu a denominação de Vírus da Imunodeficiência Humana do tipo 1 (HIV-1), pelo *International Committee on Taxonomy Viruses* (ICTV) (BARRE-SINOUSSE et al., 1983; GALLO et al., 1984). No mesmo ano, foi identificado o segundo retrovírus relacionado à doença, no Oeste da África, denominado HIV-2 (CLAVEL et al., 1986).

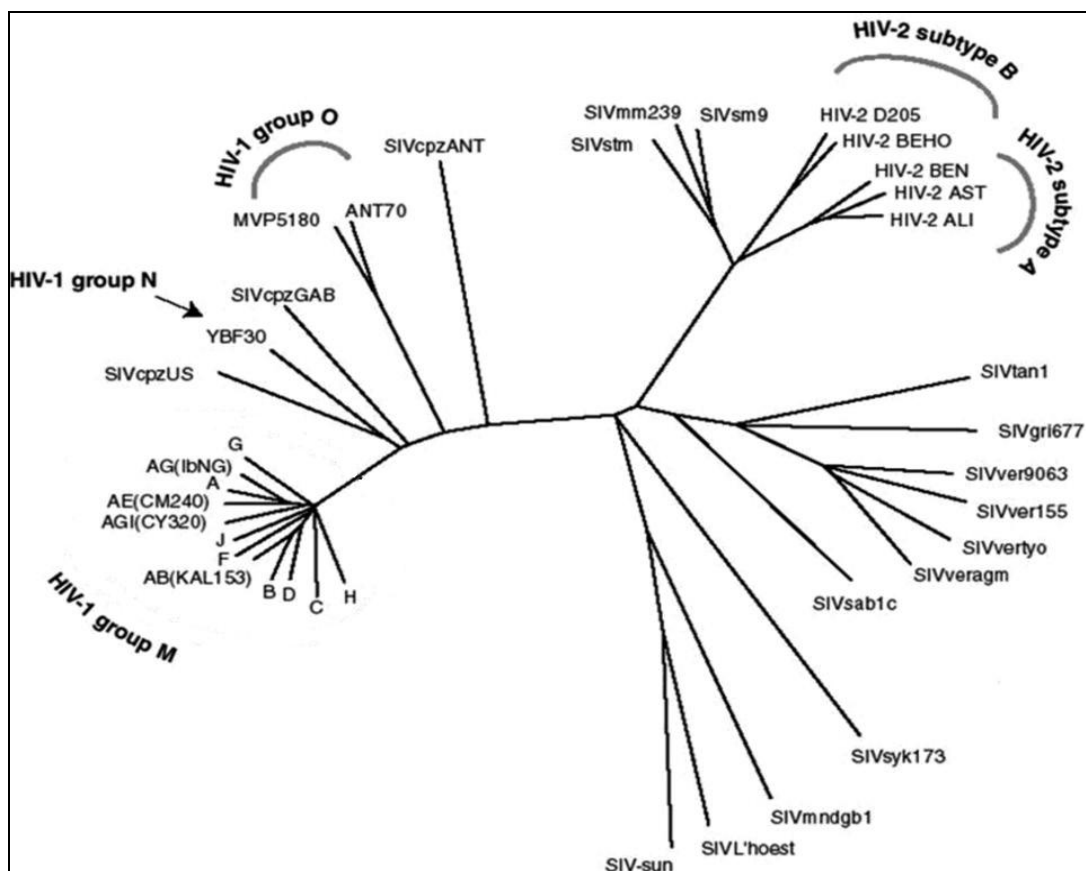
### **1.2 Origem evolutiva do HIV**

A descrição da evolução do HIV tem sido baseada em evidências obtidas por estudos filogenéticos realizados com Vírus da Imunodeficiência Símia, do inglês, *Simian Immunodeficiency Viruses* (SIV). Os SIVs são encontrados em mais de 40 espécies de primatas não humanos na África Subsaariana e possuem homologia considerável com o HIV (SHARP; HAHN 2011; LOCATELLI; PEETERS 2012; HAHN et al., 2000).

Os chimpanzés da espécie *Pan troglodytes troglodytes* adquiriram duas linhagens de vírus a partir de duas espécies de macacos diferentes, devido a essa coinfeção, surgiu um vírus recombinante, denominado SIVcpz. As estirpes de

SIVcpz foram posteriormente transmitidas para os gorilas da espécie *Gorilla gorilla* (SIVgor) e para os seres humanos, dando origem ao HIV-1 (GAO et al., 1999; BAILES et al., 2003; KEELE et al., 2006; VAN HEUVERSWYN et al., 2006).

Em relação ao HIV-2, estudos filogenéticos indicam que o mesmo teve origem do SIV de mangabeis fuliginosos da espécie *Cercocebus atys* (SIVsmm). Consequentemente, pode ser observada em árvores filogenéticas a distância entre o HIV-1 e HIV-2 e, a proximidade dos mesmos com seus respectivos SIVs de origem (FIGURA 1) (CHEN et al., 1996; CORBET et al., 2000; GAO et al., 1999).



**Figura 1:** Representação da árvore filogenética do HIV-1, SIVcpz, HIV-2 e SIVsmm, evidenciando associações filogenéticas entre HIV-1/SIVcpz e HIV-2/SIVsmm (Fonte: Adaptado de ROTTA; ALMEIDA, 2011).

### 1.3 Epidemiologia do HIV/AIDS

Atualmente estima-se que 36,9 milhões de pessoas vivem com o HIV em todo o mundo, sendo a África subsaariana a região mais atingida com cerca de 70% dos casos (WHO, 2015a). Desde os primeiros relatos da infecção pelo HIV, no início da

década de 80, até o ano de 2013, já foram registradas mais de 39 milhões de mortes relacionadas à aids, em todo o mundo (UNAIDS, 2015).

No Brasil, as estimativas são de 734 mil indivíduos infectados pelo HIV. No ano de 2014, ocorreram aproximadamente 44.000 novas infecções, representando aumento no número de novos casos quando comparado aos 39.185 notificados em 2012 (BRASIL, 2013a; UNAIDS, 2015). A maior concentração dos casos encontra-se na região Sul e menor na região Nordeste do Brasil, com 31,1 e 16,0 casos para cada 100 mil habitantes, respectivamente (BRASIL, 2014).

## **1.4 Infecção pelo HIV**

### **1.4.1 Células alvo**

A infecção pelo HIV ocorre em células que expressam na membrana o receptor CD4 como os linfócitos T CD4+, macrófagos e células dendríticas (ABBAS et al., 2008). No entanto, já foi demonstrado que o HIV é capaz de infectar células CD4-, incluindo linhagens de fibroblastos, células dendríticas foliculares, células gliais derivadas de cérebro e linhagens celulares de carcinoma de fígado (LEVY, 2007), além de células vermelhas sanguíneas e plaquetas (OLINGER et al., 2002; LEVY, 2007). Estudos vêm sendo realizados na tentativa de elucidar o mecanismo de interação do HIV com células e plaquetas, uma vez que estes fragmentos celulares não expressam o principal receptor de entrada, o CD4 (MORIS et al., 2004; BOUKOUR et al., 2006; FLAUJAC; BOUKOUR; CRAMER-BORDÉ, 2010).

Muitos vírus utilizam moléculas envolvidas na adesão celular como receptores ou correceptores de entrada, por exemplo, a molécula de adesão celular do tipo 1 (ICAM-1) para rinovírus (GREVE et al., 1989; STAUNTON, 1989), integrinas para echovírus (BERGELSON et al., 1992) e adenovírus (WICKHAM et al., 1993). Além disso, as moléculas de adesão DC-SIGN e CLEC-2 foram associadas à captura e internalização do HIV em células dendríticas (MORIS et al., 2004) e em plaquetas (FLAUJAC; BOUKOUR; CRAMER-BORDÉ, 2010).

As plaquetas também expressam outras moléculas de adesão celular da família das integrinas na forma dos complexos glicoprotéicos GPIa-IIa e GPIIb-IIIa (METCALFE, 2004), nos quais residem determinantes antigênicos polimórficos denominados antígenos plaquetários humanos, HPA (*Human Platelet Antigens*)

(SCHROEDER; RAYNER, 1993). Os polimorfismos dos HPA também já foram associados com infecções virais, como dengue e infecção pelo Vírus da Hepatite C (VHC) (SOUNDRAVALLY; HOTI, 2007; VERDICHIO-MORAES et al., 2009). Dessa forma, as moléculas de adesão constituem fortes candidatas na interação do HIV com células e plaquetas, na ausência da molécula CD4.

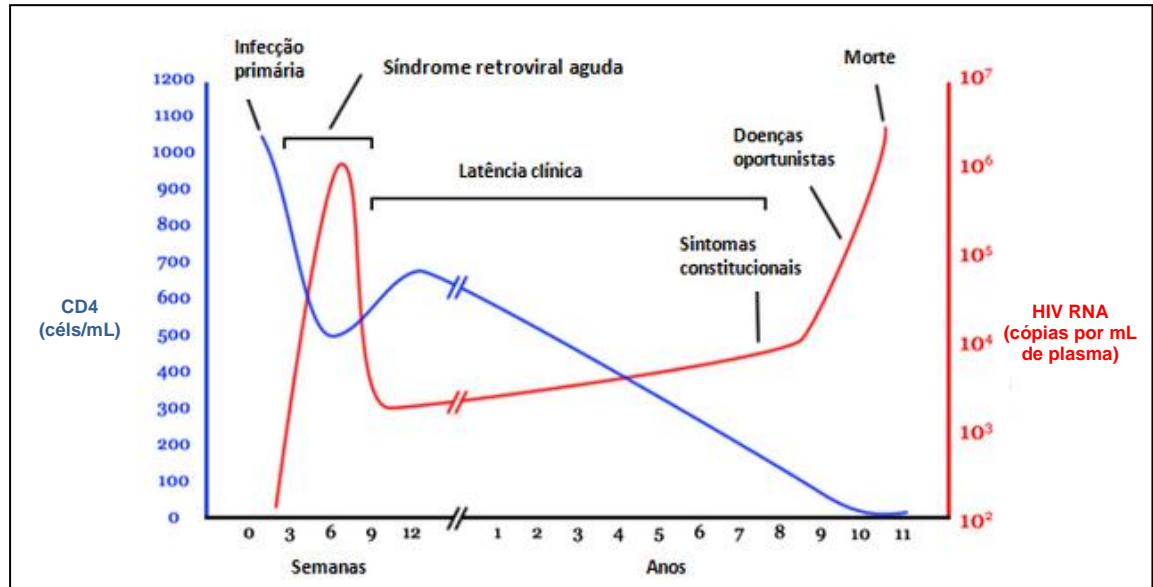
#### **1.4.2 Evolução Clínica**

A evolução da infecção pelo HIV é caracterizada inicialmente pela fase aguda, geralmente assintomática ou com sintomatologia não específica, representando o período de alta viremia, com queda transitória da contagem de células T CD4+. Em seguida, inicia a fase crônica da infecção, assintomática, conhecida como período de latência do HIV, na qual ocorre replicação viral e declínio progressivo da contagem de CD4. Com a queda do CD4 a níveis inferiores a 200 células/mm<sup>3</sup> podem surgir algumas infecções oportunistas, dando início à infecção sintomática pelo HIV (BARTLETT, 2000).

O CDC (Centers Disease Control and Prevention) utiliza um sistema de classificação para os pacientes infectados que categoriza condições clínicas em A, B ou C, associadas a contagem de linfócitos T CD4 em 1, 2 e 3. Dessa forma, os pacientes infectados são classificados na categoria A quando assintomáticos e/ou linfadenopatia generalizada e/ou infecção aguda; categoria B, consiste de condições sintomáticas que não estão listados em C e a categoria C inclui pacientes com condições clínicas indicativas de aids. Quanto a classificação segundo o número de linfócitos T CD4, os pacientes são incluídos em 1 quando apresentam contagens de linfócitos T CD4 superior a 500 células/mm<sup>3</sup>, em 2 quando o nível de linfócitos T CD4 se encontra entre 200 e 499 células/mm<sup>3</sup> e em 3 quando a contagem de linfócitos T CD4 é inferior a 200 células/mm<sup>3</sup> (CDC, 1992). Embora novas diretrizes para classificação de aids tenham sido publicadas recentemente, a nova classificação deve ser vista com cautela para aplicação em pesquisas (BRASIL, 2007; SELIK et al., 2014).

O paciente é diagnosticado com aids quando a contagem de células TCD4+ alcança níveis inferiores a 200 células/mm<sup>3</sup>, e/ou quando é classificado na categoria C do sistema de classificação CDC (CDC, 1992). O período desde a infecção inicial

pelo HIV até o diagnóstico da aids é, em média, de 10 anos em indivíduos sem tratamento (FIGURA 2) (KARON et al., 1992).

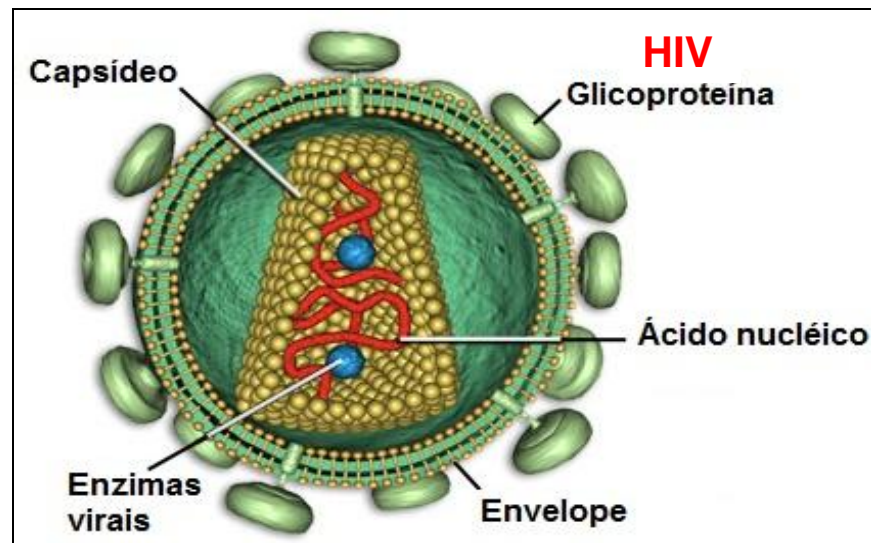


**Figura 2:** Evolução clínica da infecção pelo HIV, demonstrando, em azul, os níveis de linfócitos T CD4 (células/mL) e, em vermelho a quantificação do RNA do HIV no plasma (cópias de RNA/mL) ao longo da infecção (Fonte: Adaptado de <http://www.infectologia.net.br/infeccao-pelo-hiv-3>).

### 1.5 Estrutura e Genoma do HIV-1

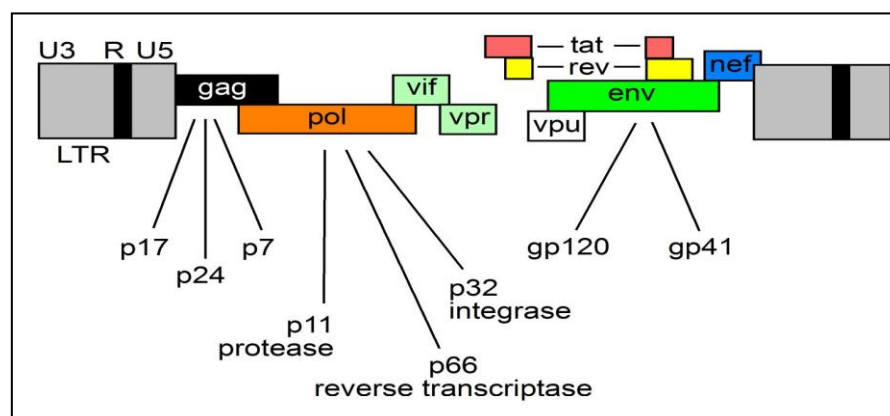
O HIV-1 é um retrovírus da família *Lentiviridae*, com genoma constituído por duas fitas idênticas de RNA fita simples, as quais são revestidas por proteínas e enzimas virais, envoltos pelo capsídeo, matriz proteica e externamente por uma dupla camada de fosfolipídios, derivada da membrana da célula hospedeira, com glicoproteínas virais (gp41 e gp120) ancoradas (Figura 3) (BARRE-SINOUSI, 1996; CONNOR; HO, 1992).

As proteínas do HIV-1 são codificadas pelo genoma viral (Figura 4), por meio dos genes estruturais *gag* (*group-specific antigen*), *pol* (*polymerase*) e *env* (*envelope*), além dos genes acessórios e regulatórios (CULLEN, 1991). Nas extremidades do genoma se encontram regiões repetidas denominadas LTR (*Long Terminal Repeat*), que não são traduzidas, porém, com papel fundamental no ciclo replicativo viral (COFFIN; HUGHES; VARMUS, 1997).



**Figura 3:** Representação esquemática da estrutura do HIV, evidenciando o envelope, o capsídeo, o ácido nucleico e as enzimas do vírus (Fonte: <http://1.bp.blogspot.com/-M9EuWSpZQRQ/TdruoHzvTFI/AAAAAAAAAA e8/gtdBzYGwhNs/s1600/virus+fig1.jpg>).

O gene *gag* é responsável por codificar as proteínas virais da matriz (p17), do capsídeo (p24) e do nucleocapsídeo (p7/p9). O gene *env* codifica as proteínas do envelope viral gp 120 e gp 41, responsáveis pela primeira interação do HIV-1 a molécula CD4 da célula alvo e, por fim, o gene *pol* codifica uma poliproteína precursora, que após clivagem proteolítica origina as enzimas virais transcriptase reversa (TR), protease (PR) e integrase (IN) (CONNOR; HO, 1992).



**Figura 4:** Representação esquemática do genoma do HIV, evidenciando os genes estruturais (*gag*, *pol* e *env*) e seus respectivos produtos proteicos (Fonte: Adaptado de <http://hivbook.com/tag/viral-gen>).



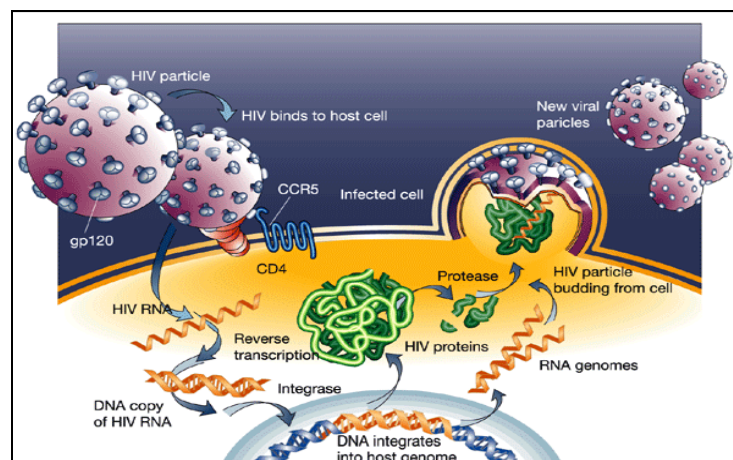
## 1.6 Ciclo Replicativo do HIV-1

As enzimas virais TR, PR e IN são fundamentais no ciclo replicativo do HIV-1 (Figura 5). Após a infecção do HIV-1 na célula, a transcriptase reversa atua na síntese de DNA, a partir do RNA viral. No entanto, devido à ausência de capacidade de reparo de DNA, a TR é incapaz de corrigir erros que ocorrem durante a retrotranscrição, o que leva a uma alta taxa de mutações no genoma viral (CONNOR; HO, 1992).

A integrase é importante para incorporação do DNA viral ao DNA da célula do hospedeiro. Dessa forma, o DNA viral integrado passa a ser denominado provírus. O DNA proviral funciona como molde para a formação de novas partículas virais, as quais são transcritas juntamente com o DNA da célula hospedeira, quando esta for ativada para a transcrição dos seus próprios genes (CONNOR; HO, 1992; MULDER; CHAKRABARTI; MUESING, 2002). Estudos já demonstraram que existe correlação direta entre o DNA proviral e os vírus encontrados no plasma, os quais podem ser quantificados pelos testes de carga viral (CHUN et al., 2011).

A protease está envolvida no processo de clivagem das poliproteínas precursoras do HIV-1, possibilitando a formação de proteínas essenciais para a montagem de novos vírus, durante o brotamento viral (GAVIN; YOGEN, 2002).

Na fase do brotamento ocorre a curvatura da membrana celular, conduzida pelo complexo de proteína *gag*, levando a formação de um broto. Em seguida, as glicoproteínas virais codificadas pelo *env* são incorporadas e, um novo vírus é liberado para o plasma (FREED, 1998).



**Figura 5:** Representação esquemática do ciclo replicativo do HIV evidenciando as etapas de entrada, replicação e saída do HIV durante o ciclo replicativo (Fonte: Adaptado de WEISS, 2001).

## 1.7 Variabilidade genética

O HIV-1 apresenta alta variabilidade genética resultante de vários fatores, como, por exemplo, elevada taxa de replicação, com produção de cerca de  $10^{10}$  partículas virais por dia e alto índice de mutação viral por ciclo replicativo (ROBERTS et al., 1989). Estas mutações ocorrem devido a substituições, deleções e inserções durante a transcrição do RNA em cDNA, com ausência de mecanismos de reparo da TR (NOWAK, 1992). Consequentemente, podem ser gerados vírus com proteínas não funcionais, ou ainda, vírus com capacidade de responder às alterações da pressão seletiva exercida pelo sistema imunológico ou pelo tratamento antirretroviral (CLAVEL et al., 1989; PULSINELLI; TEMIN, 1991; COFFIN, 1992).

O elevado número de mutações no genoma do HIV-1 contribui para a formação de populações virais com características genéticas semelhantes em um mesmo indivíduo, denominadas de *quasispecies* (EIGEN, 1996, COFFIN; HUGHES; VARMUS, 1997). Outro fator importante na variabilidade viral é a formação de recombinações genéticas entre dois vírus, podendo ser do mesmo subtipo ou de subtipos diferentes, que infectam a mesma célula simultaneamente, durante a replicação viral, produzindo as formas recombinantes circulantes, do inglês, *Circulating Recombinant Forms* (CRF) (ZHUANG et al., 2002; NAJERA et al., 2002).

Baseado no genoma completo do HIV-1, as variantes podem ser divididas em três grupos: M (“major”/maior), O (“outlier”/divergente), e N (“non-M non-O”/nem M nem O). O grupo M é o responsável pela maioria das infecções em todo o mundo, sendo subdividido em nove subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J e K) e por subsubtipos (A1, A2, A3, F1 e F2) (ROBERTSON et al., 2000; HEMELAAR, 2012). No entanto, como prova que variantes virais estão em constante surgimento, foi descoberta no Centro-Oeste da África, o quarto grupo do HIV-1, denominado grupo P (PLANTIER et al., 2009).

O subtipo C do grupo M predomina na pandemia mundial, uma vez que este é o mais prevalente na África subsaariana e no Sudeste asiático, locais onde se concentram a maioria dos casos de HIV-1 do mundo (BUONAGURO; TORNESELLO; BUONAGURO, 2007). O grupo O e o grupo N está presente na minoria das infecções na África Centro-Occidental (HEMELAAR, 2012).

No Brasil, ocorre o predomínio do subtipo B do HIV-1, o qual também representa a principal forma genética na Europa ocidental e central, nas Américas e na Austrália (BUONAGURO; TORNESELLO; BUONAGURO, 2007). No entanto, dentro do território brasileiro, diferentes distribuições de subtipos foram relatadas, sendo o subtipo B mais frequente nas regiões Sudeste, Centro Oeste e Nordeste, seguido pelo subtipo F, considerado o principal subtipo não-B circulante no país. Na região Sul do Brasil a prevalência do subtipo C é maior que no restante do país, podendo ultrapassar 50% dos casos (BRASIL, 2014).

### **1.8 Monitoramento e Tratamento**

O arsenal biotecnológico utilizado no combate ao HIV tem proporcionado, por meio do diagnóstico, monitoramento e tratamento, melhor expectativa e qualidade de vida aos pacientes infectados pelo vírus. No entanto, muitas pessoas ainda não possuem conhecimento da importância de procurar um serviço especializado ou, não tem acesso à assistência e tratamento, ou ainda, não possuem conhecimento da existência da própria infecção.

O monitoramento da infecção pelo HIV após o diagnóstico é crucial para o aumento da sobrevivência do paciente, pois com o auxílio dos exames periódicos laboratoriais e clínicos, são obtidas informações para o correto manejo do tratamento. A contagem de CD4+, que avalia o estado imunológico dos indivíduos infectados e o exame de Carga Viral, que quantifica o RNA plasmático do HIV, são exames utilizados para monitorar a evolução da doença, estimar o prognóstico, avaliar a indicação de início do tratamento e estabelecer o risco de progressão para aids (MURRI et al., 2006; ZACCARELLI et al., 2009).

O Departamento de DST/Aids e Hepatites Virais do Ministério da Saúde fornece insumos aos laboratórios da rede pública que realizam os exames de Contagem de Linfócitos T CD4+/CD8, Carga Viral e Genotipagem no Brasil. O exame de Genotipagem pesquisa mutações em códons específicos associados a resistência aos antirretrovirais, possibilitando o monitoramento da resposta a terapia antirretroviral (TARV) (BRASIL, 2015a).

O SISCEL (Sistema de Controle de Exames Laboratoriais de CD4/CD8 e Carga Viral) e o SISGENO (Sistema de Informação para Rede de Genotipagem) são

sistemas informatizados, criados pelo Ministério da Saúde, a fim de controlar e armazenar todas as informações referentes ao cadastro e histórico dos pacientes infectados pelo HIV, facilitando o acesso aos profissionais da saúde, para melhor avaliação do paciente (BRASIL, 2015b; BRASIL, 2015c).

O Brasil fornece tratamento gratuito para pessoas que vivem com HIV/aids desde 1996, pelo Serviço Único de Saúde (SUS). O índice de mortalidade no país como um todo, tem apresentado queda significativa nos últimos anos, o qual passou de 6,1 óbitos para cada 100 mil habitantes em 2004 para 5,7 em 2013, representando uma queda de 6,6% (BRASIL, 2014). Atualmente o Brasil apresenta ampla cobertura de tratamento antirretroviral, com aproximadamente 50% das pessoas vivendo com HIV recebendo TARV, enquanto que a média global é de 40% (UNAIDS, 2015; WHO, 2015a). Conseqüentemente, esse impacto da melhoria do acesso ao tratamento tem aumentado os casos de pacientes crônicos e o aparecimento de variantes virais resistentes ao tratamento (BRASIL, 2013b).

## **1.9 Antirretrovirais**

### **1.9.1 Classes de drogas**

Na ausência de uma vacina contra o HIV, o tratamento antirretroviral (TARV) tem como objetivo controlar a infecção pelo HIV e promover o aumento da expectativa e qualidade de vida do paciente. Atualmente, os antirretrovirais aprovados pela U.S. *Food and Drug Administration* (FDA), atuam em diferentes momentos do ciclo replicativo, bloqueando a ligação, entrada, replicação ou maturação do HIV na célula hospedeira (FAUCI, 1988; HUTCHINSON, 2001).

As drogas antirretrovirais com ação na transcrição reversa do ciclo replicativo do HIV, são divididas em dois grupos: os inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleosídeos ou nucleotídeos (ITRNs) e os não-análogos de nucleosídeos (ITRNNs). Os ITRNs são medicamentos estruturalmente semelhantes aos nucleotídeos verdadeiros (adenosina, citocina, timina e guanossina), que competem pela ligação no sítio ativo da TR. No entanto, devido a ausência de 3'OH quando incorporados ao DNA atuam como terminadores de cadeia (ROBBINS et al., 1998). Os ITRNs aprovados são: abacavir (ABC), didanosina (ddl), emtricitabina

(FTC), lamivudina (3TC), estavudina (d4T), zalcitabina (ddC), zidovudina (AZT), tenofovir (TDF) (HIV TREATMENT, 2015).

Os ITRNNs agem pela ligação a um sítio alostérico da TR, que induz uma mudança conformacional enzimática, bloqueando sua ação e, inibindo a síntese de DNA (SPENCE, 1995). Os tipos de ITNNs são: etravirina (ETV), delavirdina (DLV), efavirenz (EFV), nevirapina (NVP), rilpirina (RPV) (HIV TREATMENT, 2015).

Os antirretrovirais inibidores de protease (IPs) agem diretamente na protease inibindo a fragmentação proteolítica das poliproteínas e, conseqüentemente, a formação de novas partículas virais (CLAVEL; HANCE, 2004). Os IPs aprovados são: amprenavir (APV), atazanavir (AZT), darunavir (TMC114), fosamprenavir (FPV), indinavir (IDV), lopinavir (LPV), nelfinavir (NFV), ritonavir (RTV), saquinavir (SQV) e tipranavir (TPV) (HIV TREATMENT, 2015). Baixas dosagens de ritonavir com IPs proporcionam maior biodisponibilidade dos mesmos, além de diminuir o risco de mutações e resistência viral (MOYLE; BACK, 2001; SCOTT, 2005).

Os antirretrovirais que inibem a entrada do HIV na célula alvo são conhecidos como inibidores de fusão (IF) e inibidores de correceptores (ICR). Os IFs agem inibindo a gp41, impossibilitando a fusão do envelope viral à célula hospedeira. A enfuvirtida (T20 ou ENF) é o único IF aprovado, sendo utilizado no tratamento anti-HIV-1 em terapias de resgate (MOORE; DOMS, 2003; IDEMYOR, 2005). Outro medicamento alternativo para pacientes com falha terapêutica é o maraviroque, o qual é um ICR que atua antagonizando o correceptor CCR5, evitando as interações celulares e entrada do HIV na célula (PUGACH et al., 2008).

Os inibidores de integrase (IIN) são antirretrovirais que bloqueiam a integrase do HIV-1, a fim de evitar a integração do cDNA ao genoma da célula hospedeira. Em 2007 foi aprovado o primeiro inibidor de integrase, o raltegravir. Recentemente foi aprovado outro IIN, o dolutegravir, aumentando o número de medicamentos disponíveis no tratamento do HIV (NAIR; CHI, 2007; BAILLY; COTELLE, 2015).

### 1.9.2 Terapia Antirretroviral Altamente Ativa (HAART)

O início do tratamento antirretroviral (TARV) do HIV deve seguir o padrão da Terapia Antirretroviral Altamente Ativa, do inglês, *Highly Active Antiretroviral Therapy* (HAART), o qual deve incluir combinações de pelo menos três drogas diferentes e duas classes distintas de antirretrovirais, sendo geralmente dois ITRN/ITRN associados a um ITRNN ou a um IP com RTV (IP/r) (BRASIL, 2013b).

A terapia tripla de antirretrovirais representa o tratamento mais eficaz atualmente na infecção pelo HIV, pois promove melhor supressão da replicação viral dentro do organismo, com rápido declínio da carga viral, fortalecendo o sistema imunológico no combate a infecções, além de, diminuir a morbidade e mortalidade das pessoas vivendo com HIV/aids (PENNING, 2012; BRASIL, 2013b; WHO, 2015a).

No Brasil, o Ministério da Saúde recomenda o início da terapia de ARV para pacientes sintomáticos; pacientes assintomáticos com contagem de células TCD4+ inferior ou igual a 500 células/mm<sup>3</sup>; gestantes e para pacientes com contagem de TCD4+ superior a 500 células/mm<sup>3</sup> nos seguintes casos: coinfeção pelo vírus da hepatite B (VHB) com indicação de tratamento para a hepatite B, neoplasias não definidoras de aids com indicação de quimioterapia ou radioterapia, doença cardiovascular estabelecida ou risco cardiovascular, coinfeção com o Vírus da Hepatite C e carga viral do HIV acima de 100.000 cópias/mL. No entanto, esses critérios do Ministério da Saúde, vem acompanhados do estímulo de tratamento imediato a todos os indivíduos vivendo com HIV/aids, independente da contagem de linfócitos T CD4, a fim de diminuir a transmissão do HIV (BRASIL, 2013b).

Contudo, a adesão ao tratamento e os riscos de efeitos adversos em longo prazo devem ser considerados. A supressão viral deve ser completa para a efetividade do tratamento, caso a supressão seja parcial, podem surgir vírus resistentes aos antirretrovirais, levando a falha virológica e insucesso do HAART (HOGG et al., 2006; RICHMAN, 2006; BRASIL, 2013b).

### 1.9.3 Falha terapêutica

Os parâmetros utilizados para a detecção da falha terapêutica são: carga viral do HIV, contagem de linfócitos T CD4+ e a ocorrência de eventos clínicos. A falha virológica é definida por carga viral plasmática detectável após seis meses do início do medicamento ou modificação da terapia antirretroviral, ou por detecção do RNA do HIV nos indivíduos que mantinham carga viral indetectável durante o tratamento (BRASIL, 2013b).

A detecção precoce da falha virológica previne o acúmulo de mutações de resistência que podem comprometer a eficácia do uso de novos esquemas terapêuticos (HAMMER et al., 2006). Além disso, a identificação da falha virológica o quanto antes, também evita prejuízos imunológicos e risco de progressão de doenças (BRASIL, 2013b).

Os fatores relacionados à falha aos antirretrovirais são: baixa adesão ao tratamento (devido à complexidade posológica e à ocorrência de efeitos adversos); potência virológica insuficiente; fatores farmacológicos que resultem em má absorção ou eliminação acelerada dos medicamentos e resistência viral, sendo o último um dos principais fatores que contribuem para a perda da supressão plasmática do RNA do HIV (falha virológica) em pacientes durante o tratamento (DIAZ, 2011; BRASIL, 2013b).

### 1.9.4 Resistência aos antirretrovirais

A resistência do HIV aos ARVs se desenvolve como um mecanismo de seleção natural. A pressão seletiva do meio ambiente em que o vírus vive seleciona cepas virais mais adaptadas ao meio, que predominarão na presença de ARVs. Essas modificações virais resultam de mutações que ocorrem diariamente no genoma viral devido à alta taxa de replicação viral e ausência de mecanismo de reparo da enzima TR (HO et al., 1995; DIAZ, 2011).

As mutações relacionadas à resistência atingem genes fundamentais envolvidos no ciclo replicativo do HIV, comprometendo o *fitness* viral (capacidade de adaptação replicativa do vírus a um determinado ambiente) (QUINONES-MATEU et al., 2000). No entanto, as mutações compensatórias e o acúmulo de mutações, podem conduzir a recuperação do *fitness*, além de comprometer o uso de outras

drogas, pelo desenvolvimento de resistência cruzada (LIU; SHAFER, 2006; VAN MAARSEVEEN et al., 2006).

As mutações de resistência são identificadas comparando o genoma viral com um vírus selvagem. Entretanto, a alta variabilidade do HIV não permite a existência de uma cepa selvagem padrão. Dessa forma, para estudos de mutação e resistência aos ARVs, são utilizadas sequências de referência, como por exemplo, a sequência HXB2 do subtipo B do HIV-1, por conter os aminoácidos mais comuns em cada posição desse subtipo (KORBER et al., 2015).

A resistência associada aos ARVs pode ser classificada em resistência primária ou resistência secundária. A resistência primária consiste na presença de cepas resistentes em indivíduos que não fizeram uso de medicamento prévio, as quais podem ter sido obtidas por transmissão ou por mutações espontâneas (GRANT et al., 2002). A resistência secundária é definida pela emergência de mutações de resistência selecionadas durante a pressão seletiva exercida frente ao uso dos antirretrovirais. Os dois tipos de resistências reduzem a susceptibilidade aos ARV e comprometem o uso futuro de esquemas terapêuticos (SHAFER, 2002).

### **1.9.5 Teste de genotipagem para resistência aos antirretrovirais**

A falha terapêutica indica a necessidade da realização do teste de genotipagem, o qual permite determinar a eficácia do tratamento e auxiliar no manejo clínico de pacientes infectados pelo HIV, otimizando a escolha do esquema de resgate (BAXTER et al., 2000; TURAL et al., 2002; BRASIL, 2013b).

O teste de genotipagem baseia-se na identificação de mutações associadas à resistência, pelo sequenciamento de genes específicos do HIV que codificam os principais alvos da terapia (SHAFER, 2002). A genotipagem é uma técnica difundida mundialmente, mas não fornece o nível diretamente da susceptibilidade viral aos ARVs, sendo a interpretação realizada por consultas a listas de mutações de resistência ou por algoritmos de interpretação informatizados, que estabelecem o perfil de resistência ou suscetibilidade as drogas, de acordo com as mutações encontradas no gene viral (LIU; SHAFER, 2006).

O algoritmo do Programa da Universidade de Stanford (Stanford HIV Drug Resistance Database) e o algoritmo do Programa de Interpretação Brasileira de



Genotipagem são exemplos de ferramentas de bioinformática, utilizadas na avaliação das mutações de resistência, a partir de diferenças com a sequência consenso do subtipo B do HIV-1. A construção dos algoritmos de interpretação genotípica é um processo complexo, que requer permanente atualização, podendo ser encontradas variações consideráveis entre os diferentes algoritmos disponíveis (RAVELA et al., 2003).

No Brasil, o teste de genotipagem disponível na RENAGENO do Ministério da Saúde, determina as mutações no genoma viral pelo sequenciamento de uma porção da região *pol* do HIV-1, que inclui o gene completo da protease e cerca de dois terços do gene que codifica a transcriptase reversa, principais alvos da TARV. Atualmente, a RENAGENO é composta de 22 laboratórios executores e um de resgate, distribuídos pelo território brasileiro (BRASIL, 2015a).

### **1.9.6 Mutações de resistência**

O conhecimento do perfil de mutações associadas a resistências aos antirretrovirais contribui para a escolha de uma terapêutica mais eficiente e segura. As mutações de resistência do HIV podem ser classificadas em principais ou primárias e acessórias ou secundárias, encontradas nas diferentes classes de medicamentos.

As mutações principais são capazes de reduzir a suscetibilidade à determinada droga. As acessórias são capazes de reduzir a suscetibilidade viral à droga quando em combinação com a mutação principal ou podem melhorar o *fitness\_viral*, prejudicado em ocasião da mutação primária. As mutações podem variar, sendo mutação principal para uma droga e acessória para outra (SHAFER, 2002).

As mutações de resistência são identificadas pela letra do aminoácido da sequência de referência, seguida pelo número da posição do códon em que ocorreu a mutação e da letra referente ao aminoácido da mutação. O M184V é um exemplo de mutação, no qual M é o aminoácido metionina que foi trocado pelo aminoácido V (valina), na posição 184 do códon.

O número de mutações necessárias para comprometer a atividade de um antirretroviral, a facilidade de seleção de uma determinada mutação de resistência ou o impacto de cada mutação na eficácia do ARV, estão relacionados à barreira

genética de resistência aos antirretrovirais. Um medicamento que necessita de várias mutações de resistência para perder seu efeito apresenta alta barreira genética (BEERENWINKEL et al., 2005; DEFORCHE et al., 2008; DIAZ, 2011).

Os IPs potenciados com ritonavir, geralmente apresentam alta barreira genética. As mutações de resistência desta classe levam a uma alteração na conformação tridimensional da PR reduzindo o tempo de ligação entre os IPs e a PR, favorecendo a ligação do substrato natural do vírus. No entanto, as mutações aos IPs podem diminuir o tempo de clivagem da PR, reduzindo o *fitness* viral, que pode ser revertida com o surgimento de mutações acessórias (CHEN et al., 1995; NIJHUIS et al., 1998; DIAZ, 2011).

As mutações principais mais frequentes aos IPs são: D30N, M46I/L, I50L/V, V82A/F/S/T, I84V, L90M e acessórias L10F/I/R/V; K20M/R; L24I/V; L33F; M36I; L47V; G48V; F53L; I54L/M/V; L63P; A71T/V; G73S; N88D/S (JOHNSON et al., 2006; SHAFER; SCHAPIRO, 2008; MUNHOZ, 2011). As mutações da protease nos códons 46, 54, 82 e 90 também estão entre as mais frequentes (SHAFER; SCHAPIRO, 2008).

As mutações de resistência aos ITRNs causam aumento da capacidade da TR em discriminar entre o ITRN e o substrato natural, levando a incorporação de uma citosina ao invés do 3TC, por exemplo. As mutações aos ITRNs também podem aumentar a habilidade da enzima em eliminar o ITRN ligado ao final da cadeia que impede seu alongamento. Mutações análogas de tímida (TAM) elevam a retirada do AZT enquanto outras mutações como 65R, 74V e 184V diminuem a retirada de AZT, revertendo a resistência adquirida (DIAZ, 2011).

Entre as mutações de resistência aos ITRNs a M184V é a mais comum, causando resistência a 3TC e FTC, além das mutações da via TAM: M41L, I210W e T215Y, D67N, K70R, T215F e K219Q/E, conferindo susceptibilidade reduzida a todos ITRNs e resistência cruzada (WHTCOMB et al., 2003; SHAFER; SCHAPIRO, 2008).

As mutações responsáveis pela resistência aos ITRNNs promovem alteração conformacional estrutural da enzima, impedindo a ligação dos ITRNNs (SARAFIANOS et al., 2004; DIAZ, 2011). Esta classe de ARV confere altos níveis de resistência e apenas uma única mutação (K103N), leva a resistência de toda classe,

demonstrando uma barreira genética baixa. As mutações da transcriptase reversa K103N e Y181C são as mutações de resistência aos ITRNNs mais encontradas (SHAFER; SCHAPIRO, 2008).

Mutações também podem levar a resistência aos medicamentos novos alvos, IF, ICR e II, empregados em terapia de resgate. As mutações no códon 36 e 45 da GP 41 são as responsáveis pela resistência a classe IF, enquanto mutações da alça V3 da GP 120 associam a resistência ao ICR maraviroque e a resistência aos II são causadas por mutações no sítio de ligação da enzima integrase (SHAFER; SCHAPIRO, 2008).

O perfil de mutação de resistência apresenta ampla heterogeneidade e o conhecimento e estudo dessas mutações pode ser de extrema importância no estabelecimento de esquemas terapêuticos. No entanto, outros fatores também devem ser relevantes nesta avaliação, como por exemplo, a presença de coinfeções.

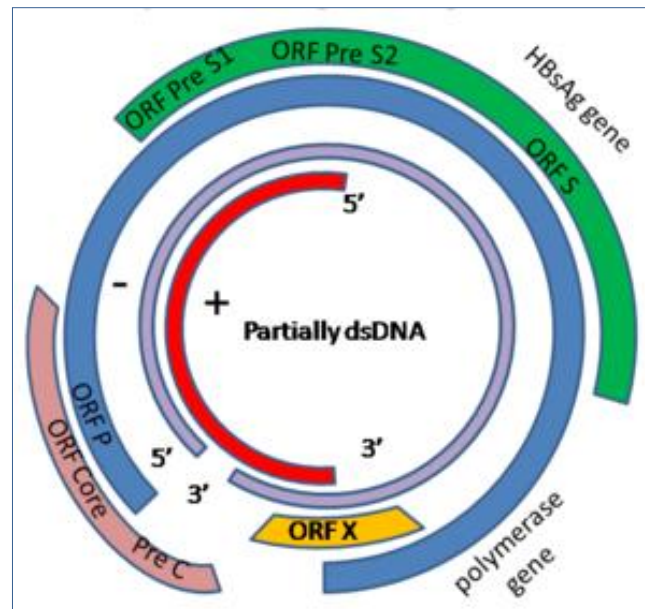
### **1.10 Vírus da Hepatite B (VHB)**

O VHB pertence à família *Hepadnaviridae* e possui tropismo pelas células hepáticas. A partícula infecciosa do VHB é envelopada e tem, aproximadamente, 42nm de diâmetro, com nucleocapsídeo icosaédrico de 27 nm e genoma circular constituído de DNA de fita dupla incompleta (FIELDS; KNIPE; HOWLEY, 2007).

O genoma do VHB é constituído por cerca de 3.200 nucleotídeos, sendo uma das cadeias do DNA curta, de polaridade positiva e, outra longa de polaridade negativa, apresentando quatro fases abertas de leitura, do inglês, *Open Reading Frame* (ORF): (1) Pré-S1/PréS2/S, que codificam proteínas como o antígeno de superfície (HBsAg), (2) Pré-Core/Core, responsáveis pela síntese das proteínas do capsídeo (HBcAg) e do antígeno e (HBeAg); (3) P, que codifica enzima DNA-polimerase RNA-dependente com atividade transcriptase reversa e (4) X, responsável pela síntese da proteína X que parece exercer funções regulatórias (FIGURA 6) (GROB, 1998; FIELDS; KNIPE; HOWLEY, 2007).

O mecanismo de infecção do VHB na célula hospedeira ainda não foi bem elucidado, endocitose e fusão direta do envelope viral com a membrana plasmática são propostas como potenciais vias. Durante a replicação viral, o VHB utiliza a

transcrição reversa, semelhante aos retrovírus, etapa possivelmente responsável pela diversidade de mutações encontradas no genoma do vírus (URBAN et al., 2010).



**Figura 6:** Representação esquemática do genoma do VHB, evidenciando as regiões codificadoras (ORFs) do vírus (Fonte: adaptado de Beards, 2007).

### 1.10.1 Epidemiologia do VHB

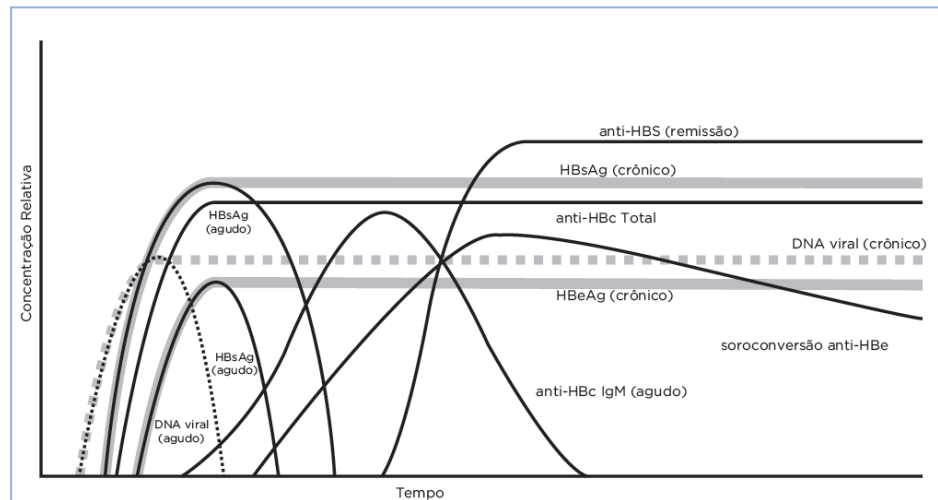
Atualmente estima-se que 240 milhões de pessoas são cronicamente infectadas com o VHB em todo o mundo (definido como o antígeno de superfície do VHB positivo, pelo menos, 6 meses), com prevalência na África Subsaariana e na Ásia Oriental, atingindo 5-10% da população adulta. As altas taxas de infecções crônicas pelo VHB também são encontrados na Amazônia e nas regiões Sul da Europa Central e Oriental (WHO, 2015b).

Devido às vias comuns de transmissão, a prevalência do VHB é relativamente alta em indivíduos com HIV, estima-se que aproximadamente 10% das pessoas infectadas pelo HIV possuem Hepatite B crônica. Em países em que ambos os vírus são altamente endêmicos, a taxa de coinfeção VHB/HIV pode atingir 20% (MODI; FELD, 2007; GERETTI et al., 2010).

### 1.10.2 Evolução clínica da infecção pelo VHB

Na infecção aguda pelo VHB ocorre aumento dos níveis séricos das aminotransferases, caracterizado por sintomas inespecíficos de uma infecção viral. Em seguida, pode ocorrer a forma icterica da doença, com posterior melhora do quadro clínico. O DNA viral pode ser detectado em baixos níveis no indivíduo por um período de um mês a partir da infecção. Os marcadores sorológicos característicos da doença são variáveis, podem ser detectados ou não, dependendo da fase da doença (ASPINALL et al., 2011). O pico de detecção dos antígenos virais (HBeAg e HBsAg) acontecem após seis semanas da infecção. O primeiro anticorpo a ser detectado na infecção pelo VHB é contra o antígeno core do VHB (HBcAg), primeiramente da classe IgM e mais tarde os anticorpos IgG-AntiHBc (BRASIL, 2011).

A infecção crônica do VHB pode ser dividida em quatro fases: tolerância imunológica, imunorreação, portador inativo e reativação (BRASIL, 2011). Na primeira fase, observa-se a presença do AgHBe, altos níveis séricos de DNA-VHB, níveis normais ou minimamente elevados de alanina aminotransferases (ALT) e fígado normal ou somente atividade histológica mínima e fibrose escassa. A segunda fase é caracterizada por uma diminuição dos níveis de DNA viral, elevação da ALT e necroinflamação hepática. A terceira fase é caracterizada pela soroconversão do AgHBe para anti-HBe (negatividade do AgHBe e a positividade para anti-HBe), níveis indetectáveis ou baixo de DNA-VHB, níveis normais de ALT e fibrose mínima. Na quarta fase, como o DNA viral persiste nos hepatócitos, pode ocorrer a reativação do VHB com reaparecimento da doença hepática tanto espontaneamente como induzida por atividade imunossupressora. A reativação da replicação viral pode ocorrer devido a reativação do vírus selvagem com uma reversão do estado AgHBe positivo, ou muito mais frequentemente, com a replicação competente de variantes VHB que evitam a expressão do AgHBe. Nesta fase ocorre a negatividade do AgHBe com níveis de DNA-VHB séricos detectáveis, elevação da ALT e moderada ou severa necroinflamação com valores distintos de fibrose na biópsia hepática (FATTOVICH; BORTOLOTTI; DONATO, 2008).



**Figura 7:** Representação esquemática evidenciando a evolução dos marcadores do VHB nas infecções agudas e crônicas (Fonte: Adaptado de Brasil, 2015).

### 1.10.3 Tratamento da Infecção pelo VHB

O tratamento da infecção pelo VHB tem como objetivo reduzir o risco de progressão da doença hepática como cirrose, hepatocarcinoma e, conseqüentemente o óbito, além de buscar a negatização sustentada dos marcadores de replicação viral ativa e carga viral. Dessa forma, o nível de HBV-DNA, enzimas hepáticas e marcadores sorológicos, são os parâmetros analisados durante o tratamento para inferir na eficácia terapêutica (BRASIL, 2011).

A indicação terapêutica do Ministério da Saúde no combate ao VHB abrange os seguintes fármacos: interferon-alfa e interferon-alfa peguilado, os quais possuem mecanismos de ação antivirais, antiproliferativos e imunomoduladores e os análogos de nucleotídeo ou nucleotídeos (lamivudina e entecavir; tenofovir e adefovir, respectivamente) que possuem como alvo a DNA polimerase do VHB e podem agir por inibição direta, através de ligação competitiva com substratos endógenos ou a partir da incorporação ao DNA viral, atuando como cadeias terminadoras (FUNG et al., 2011).

A decisão do tratamento e a escolha dos fármacos dependem de fatores virais (carga viral e marcadores da infecção pelo VHB), do hospedeiro (fibrose e enzimas hepáticas), da condição do paciente (virgem de tratamento ou experimentado com antivirais) e da presença de coinfeções (BRASIL, 2011).

No tratamento da coinfeção HIV/VHB devem ser incluídos pacientes com evidências de replicação viral (HBeAg reagentes e/ou HBVDNA  $\geq 10^4$  cópias/ml ou  $\geq 2.000$  UI/ml) e/ou elevações de ALT e/ou AST; pacientes sem evidências de replicação viral, mas com alterações histológicas considerando fibrose F1 a F4 de acordo com o escore METAVIR (ISHAK et al., 1995), ou pacientes sem fibrose, mas com atividade necroinflamatória superior ou igual a A2 e pacientes com cirrose (BRASIL, 2011).

### **1.11 Evolução da coinfeção HIV/VHB**

A história natural da infecção pelo VHB pode ser alterada pelo HIV. Em pacientes coinfectados HIV/VHB podem ser observados: aumento da replicação do VHB e baixa taxa de clareamento viral espontâneo; formas mais grave de doenças hepáticas (cirrose e carcinoma hepatocelular), elevando a mortalidade relacionada ao fígado; diminuição da soroconversão de anticorpos contra HbeAg (anti-Hbe) e HBsAg (anti-HBs); aumento da reativação do VHB, pior resposta do VHB ao tratamento com interferon-alfa e presença do “VHB oculto”, caracterizado por carga viral baixa de HBV-DNA e HBsAg não reagente (COHEN STUART, 2009; THIO, 2002; THIO, 2009; BRASIL, 2011).

Estudos de mutação de resistência sugerem que padrões de mutações do VHB também podem estar associados com a coinfeção ao HIV (AUDSLEY, et al., 2010). Um exemplo é a resistência a lamivudina do VHB, a qual é mais comum e se desenvolve mais rápido em pacientes coinfectados HIV/VHB (MIALHES et al., 2007). Dessa forma, a presença do HIV pode favorecer a resistência a medicamentos do VHB.

Contudo, a influência do VHB sobre a evolução do HIV é pouco compreendida. Embora a coinfeção HIV/VHB parece favorecer o pior prognóstico do paciente e interferir nos resultados da TARV, pouco é conhecido sobre a influência do VHB na emergência de mutações de resistência do HIV, bem como o perfil de mutações do HIV em coinfectados HIV/VHB (BRASIL, 2011).

## REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K. et al. **Imunologia celular e molecular**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. 565 p.

ASPINALL, E. J. et al. Hepatitis B prevention, diagnosis, treatment and care: a review. **Occup. Med.**, v. 61, n. 8, p. 531-540, Dec. 2011.

AUDSLEY, J. et al. HBV mutations in untreated HIV-HBV co-infection using genomic length sequencing. **Virology**, v. 405, n. 2, p. 539-547, Sept. 2010.

BAILES, E. et al. Hybrid origin of SIV in chimpanzees. **Science**, v. 300, n. 5626, p. 1713-1713, June 2003.

BAILLY, F., COTELLE, P. The preclinical discovery and development of dolutegravir for the treatment of HIV. **Expert. Opin. Drug Discov.**, v. 10, n. 11, p. 1243-1253, Sept. 2015.

BARRE-SINOUSSE, F. et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science**, v. 220, n. 4599, p. 868-871, May 1983.

BARRE-SINOUSSE, F. HIV as the cause. **Lancet**, v. 348, n. 9019, p. 31-35, July 1996.

BARTLETT, J. G. Update in infectious diseases. **Ann. Intern. Med.**, v. 131, n. 4, p. 285-292, Aug. 2000.

BAXTER, J. D. et al. A randomized study of antiretroviral management based on plasma genotypic antiretroviral resistance testing in patients failing therapy. CPCRA 046 Study Team for the Terry Bein Community Programs for Clinical Research on AIDS. **AIDS**, v.14, n.9, p.83-93, June 2000.

BEERENWINKEL, N. et al. Estimating HIV evolutionary pathways and the genetic barrier to drug resistance. **J. Infect. Dis.**, v. 191, n. 11, p.1953-1960, June 2005.



BERGELSON, J. M. et al. Identification of the integrin VLA-2 as a receptor for echovirus 1. **Science**, v. 255, n. 5052, p. 1718-1720, Mar. 1992.

BOUKOUR, S. et al. Lentivirus degradation and DC-SIGN expression by human platelets and megakaryocytes. **J. Thromb. Haemost.**, v. 4, n. 2, p. 426-435, Jan. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Boletim epidemiológico DST/AIDS**. Brasília, 2007, 48 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para o tratamento da hepatite viral crônica B e coinfeções**. Brasília, 2011, 113 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Boletim epidemiológico HIV/AIDS**. Brasília, 2013a, 68 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para manejo da infecção pelo hiv em adultos**. Brasília, 2013b, 227 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Boletim epidemiológico DST/AIDS e Hepatites Virais 2014**. Brasília, 2014, 95p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Rede Nacional de Laboratórios de Genotipagem**. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pagina/2012/51642>>. Acesso em: 30 Aug. 2015a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Sistema de Controle de Exames Laboratoriais da**

**Rede Nacional de Contagem de Linfócitos CD4+/CD8+ e Carga Viral (Siscel).**

Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/siscel>>. Acesso em: 30 Aug. 2015b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde - Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Sistema e Informação para Rede de Genotipagem (Sisgeno)**. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pagina/2010/sistema-e-informacao-para-rede-de-genotipagem-sisgeno>>. Acesso em: 30 Aug. 2015c.

BUONAGURO, L; TORNESELLO, M.L; BUONAGURO, F.M. Human immunodeficiency virus type 1 subtype distribution in the worldwide epidemic: pathogenetic and therapeutic implications. **J. Virol.**, v. 81, n. 19, p. 10209-10219, Oct. 2007.

CDC. Pneumocystis pneumonia-Los Angeles. **MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, v. 30, n. 21, p. 1-3, June 1981.

CDC. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. **MMWR Recomm. Rep.**, v. 18, p. 1-19, Dec. 1992.

CHEN, Z. et al. Three-dimensional structure of a mutant HIV-1 protease displaying cross-resistance to all protease inhibitors in clinical trials. **J. Biol. Chem.**, v. 270, n. 37, p. 21433-21436, Sept. 1995.

CHEN, Z. et al. Genetic characterization of new West African simian immunodeficiency virus SIVsm: geographic clustering of household-derived SIV strains with human immunodeficiency virus type 2 subtypes and genetically diverse viruses from a single feral sooty mangabey troop. **J. Virol.**, v. 70, n. 6, p. 3617-3627, June 1996.

CHUN, T. et al. Relationship Between Residual Plasma Viremia and the Size of HIV Proviral DNA Reservoirs in Infected Individuals Receiving Effective Antiretroviral Therapy. **J. Infect. Dis.**, v. 204, n. 1, p. 135-138, Feb. 2011.

CLAVEL, F. et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. **Science**, v. 233, n. 4761, p. 343-346, July 1986.

CLAVEL, F. et al. Genetic recombination of human immunodeficiency virus. **J. Virol.**, v. 63, n. 3, p. 1455-1459, Apr. 1989.

CLAVEL, F.; HANCE, A. J. HIV drug resistance. **N. Engl. J. Med.**, v. 350, n. 10, p. 1023-1035, Mar. 2004.

COFFIN, J. M. Genetic diversity and evolution of retroviruses. **Curr. Top. Microbiol. Immunol.**, v.176, p.143-164, Feb. 1992.

COFFIN, J. M.; HUGHES, S.H.; VARMUS, H.E. **Retroviruses**. New York: Cold Spring Harbor, 1997.

COHEN STUART, J. W. et al. Occult hepatitis B in persons infected with HIV is associated with low CD4 counts and resolves during antiretroviral therapy. **J. Med. Virol.**, v. 81, n. 3, p.441-445, Mar. 2009.

CONNOR, R. I.; HO, D. D. Etiology of AIDS: biology of human retrovirus. In: DEVITA, V.T. **AIDS: etiology, diagnosis, treatment and prevention**. Philadelphia: J. B. Lippincott Company, 1992. p. 13-85.

CORBET, S. et al. *Env* sequences of simian immunodeficiency viruses from chimpanzees in Cameroon are strongly related to those of human immunodeficiency virus group N from the same geographic area. **J. Virol.**, v. 74, n. 1, p. 529-534, Jan. 2000.

CULLEN, B. R. Regulation of HIV-1 gene expression. **FASEB J.**, v. 5, n. 10, p. 2361-2368, July 1991.

DEFORCHE, K. et al. Modelled in vivo HIV fitness under drug selective pressure and estimated genetic barrier towards resistance are predictive for virological response. **Antivir. Ther.**, v. 13, n. 3, p. 399-407, Feb. 2008.

DIAZ, R.S. **Guia para manejo de resistência antirretroviral**. Brasil: Permanyer Brasil publicações, 2011, 231 p.

EIGEN, M. On the nature of virus quasispecies. **Trends Microbiol.**, v.4, n.6, p.216-218, June 1996.

FATTOVICH, G.; BORTOLOTTI, F.; DONATO, F. G. Natural history of chronic hepatitis B: special emphasis on disease progression and prognostic factors. **J Hepatol.**, v. 48, n. 2, p. 335-352, Feb. 2008.

FAUCI, A. S. The human immunodeficiency virus: infectivity and mechanisms of pathogenesis. **Science**, v. 239, n. 4840, p. 617-22, Feb. 1988.

FIELDS, B. N.; KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. **Fields' Virology**. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2007. 91 p.

FLAUJAC, C.; BOUKOUR, S.; CRAMER-BORDÉ, E. Platelets and viruses: an ambivalent relationship. **Cell. Mol. Life. Sci.**, v. 67, n. 4, p. 545-556, Feb. 2010.

FREED, E. O. HIV-1 Gag Proteins: Diverse functions in the Virus Life Cycle. **Virology**, v. 251, n. 1, p. 1-15, Nov. 1998.

FUNG, J. et al. Entecavir monotherapy is effective in suppressing hepatitis B virus after liver transplantation. **Gastroenterology**, v. 141, n. 4, p. 1212-1219, Oct. 2011.

GALLO, R. C. et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. **Science**, v. 224, n. 4648, p. 500-503, May 1984.

GAO, F. et al. Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes troglodytes*. **Nature**, v. 397, n. 6718, p. 436-441, Feb. 1999.

GAVIN, P.J.; YOGEV, R. The role of protease inhibitor therapy in children with HIV infection. **Paediatr. Drugs**, v. 4, n. 9, p. 581-607, Aug. 2002.

GERETTI, A. M. et al. Detection of highly prevalent HBV co-infection among HIV-seropositive persons in Ghana. **J. Clin. Microbiol.**, v. 48, n. 9, p. 3223-3230, Sept. 2010.

GOTTLIEB, S. M. Pneumocystis Pneumonia--Los Angeles. **Am. J. Public. Health.**, v. 96, n. 6, p. 980-981, June 2006.

GRANT, R. M. et al. Time trends in primary HIV-1 drug resistance among recently infected persons. **JAMA.**, v. 288, n. 2, p. 181-188, July 2002.

GREVE, J. M. et al. The major human rhinovirus receptor is ICAM-1. **Cell**, v. 56, n. 5, p. 839-847, Mar. 1989.

GROB, P. J. Hepatitis B pathogenesis and treatment. **Vaccine**, v. 16, p. S11-S16, Nov. 1998.

HAHN, B. H. et al. AIDS as a zoonosis: scientific and public health implications. **Science**, v. 287, n. 5453, p. 607-614, Jan. 2000.

HAMMER, S. M. et al. Treatment for adult HIV infection: 2006 recommendations of the International AIDS Society-USA panel. **JAMA.**, v. 14, n. 3, p. 827-843, Aug. 2006.

HEMELLAAR, J. The origin and diversity of the HIV-1 pandemic. **Trends Mol. Med.**, v. 18, n. 3, p. 182-192, Mar. 2012.

HIV TREATMENT. **FDA-Approved HIV Medicines**. Disponível em: <<https://aidsinfo.nih.gov/education-materials/fact-sheets/21/58/fda-approved-hiv-medicines>>. Acesso em: 08 Aug. 2015.

HO, D. D. et al. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. **Nature**, v. 373, n. 6510, p. 123-126, Jan. 1995.

HOGG, R. S. et al. Emergence of drug resistance is associated with an increased risk of death among patients first starting HAART. **PLoS Med.**, v. 3, n. 9, p. e356, Sept. 2006.

HUTCHINSON, J. The biology and evolution of HIV. **Annu. Rev. Anthropol.**, v. 30, p. 85-108, Oct. 2001.

IDEMYOR, V. Human immunodeficiency virus (HIV) entry inhibitors (CCR5 specific blockers) in development: are they the next novel therapies?. **HIV Clin. Trials**, v. 6, n. 5, p.272-277, Oct. 2005.

ISHAK, K. et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. **J. Hepatol.**, v. 22, n. 6, p. 696-699, June 1995.

JOHNSON, V. A. et al. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: Fall 2006. **Top HIV Med.**, v. 14, n. 3, p. 125-130, Sept. 2006.

KARON, J. M. et al. Projections of the number of persons diagnosed with AIDS and the number of immunosuppressed HIV-infected persons-United States, 1992-1994. **MMWR Recomm. Rep.**, v. 41, n. RR-18, p.1-29, Dec. 1992.

KEELE, B. F. et al. Chimpanzee reservoirs of pandemic and nonpandemic hiv-1. **Science**, v. 313, n. 5786, p. 523-526, July 2006.

KORBER, B. et al. HIV sequence database. **Numbering positions in HIV relative to HXB2CG Human Retroviruses and AIDS**. Disponível em: <<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/REVIEWS/HXB2.html>>. Acesso em: 30 July 2015.

LEVY, J. A. **HIV and the pathogenesis of AIDS**. Washington: AMS Press, Inc, 2007. 644 p.

LIU, T. F.; SHAFER, R. W. Web resources for HIV type 1 genotypic-resistance test interpretation. **Clin. Infect. Dis.**, v. 42, n. 11, p. 1608-1618, June 2006.

LOCATELLI, S.; PEETERS, M. Cross-species transmission of simian retroviruses: How and why they could lead to the emergence of new diseases in the human population. **AIDS**, v. 26, n. 6, p. 659-673, Mar. 2012.

METCALFE, P. Platelet antigens and antibody detection. **Vox Sang.**, v. 87, n. 1, p. 82-86, June 2004.

MIALHES, P. et al. Impact of highly active antiretroviral therapy (HAART) on the natural history of hepatitis B virus (HBV) and HIV coinfection: relationship between prolonged efficacy of HAART and HBV surface and early antigen seroconversion. **Clin. Infect. Dis.**, v. 45, n. 5, p. 624-632, July 2007.

MODI, A. A.; FELD, J. J. Viral hepatitis and HIV in Africa. **AIDS Rev.**, v. 9, n. 1, p. 25-39, Mar. 2007.

MOORE, J. P.; DOMS, R. W. The entry of entry inhibitors: a fusion of science and medicine. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 100, n. 19, p. 10598-10602, Sept. 2003.

MORIS, A. et al. DC-SIGN promotes exogenous MHC-I restricted HIV-1 antigen presentation. **Blood**, v. 103, n. 7, p. 2648-2654, Apr. 2004.

MOYLE, G. J.; BACK, D. Principles and practice of HIV-protease inhibitor pharmacoenhancement. **HIV Med.**, v. 2, n. 2, p. 105-113, Apr. 2001.

MULDER, C. F; CHAKRABARTI, L. A; MUESING, M. A. Interaction of HIV-1 integrase with DNA repair protein hRad18. **J. Biol. Chem.**, v. 277, n. 30, p. 27489-27493, Aug. 2002.

MUNHOZ, L. S. R. **Perfil de resistência genotípica do HIV-1 em pacientes com falha na terapia antiretroviral atendidos pela Rede nacional de Genotipagem (RENAGENO) na região de Botucatu, SP-Brasil.** 2011. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2011.

MURRI, R. et al. Is moderate HIV viremia associated with a higher risk of clinical progression in HIV-infected people treated with highly active antiretroviral therapy: evidence from the Italian cohort of antiretroviral-naive patients study. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 41, n. 1, p. 23-30, Jan. 2006.

NAIR, V.; CHI, G. HIV integrase inhibitors as therapeutic agents in AIDS. **Rev. Med. Virol.**, v. 17, n. 4, p. 277-95, Aug. 2007.

NAJERA, R. et al. Genetic recombination and its role in the development of the HIV-1 pandemic. **AIDS**, v. 16, n. 4, p. 3-16, Feb. 2002.

NIJHUIS, M. et al. Stochastic processes strongly influence HIV-1 evolution during suboptimal protease-inhibitor therapy. **Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.**, v. 95, n. 24, p. 14441-14446, Nov. 1998.

NOWAK, M. A. Variability of HIV Infections. **J. theor. Biol.**, v. 155, n. 1, p. 1-20, May 1992.

OLINGER, G. G. et al. Cellular factors influence the binding of HIV type 1 to cells. **AIDS Res. Hum. Retroviruses**, v. 18, n. 4, p. 259-267, Apr. 2002.

PENNINGS, P. S. Standing genetic variation and the evolution of drug resistance in HIV. **Plos Computational Biology**, v. 8, n. 6, p. 1-13, June 2012.

PLANTIER, J. C. et al. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. **Nat. Med.** v. 15, n. 8, p. 871-872, Aug. 2009.

PUGACH, P. et al. Neutralizing antibody and anti-retroviral drug sensitivities of HIV-1 isolates resistant to small molecule CCR5 inhibitors. **Virology**, v. 377, n. 2, p. 401-407, Aug. 2008.



PULSINELLI, G. A.; TEMIN, H. M. Characterization of large deletions occurring during a single round of retrovirus vector replication: novel deletion mechanism involving errors in strand transfer. **J. Virol.**, v. 65, n. 9, p. 4786-4797, Sept. 1991.

QUINONES-MATEU, M. E. et al. A dual infection/competition assay shows a correlation between ex vivo human immunodeficiency virus type 1 fitness and disease progression. **J. Virol.**, v. 74, n. 19, p. 9222-9233, Oct. 2000.

RAVELA, J. et al. HIV-1 protease and reverse transcriptase mutation patterns responsible for discordances between genotypic drug resistance interpretation algorithms. **J. Acquir. Immune Defic. Syndr.**, v. 33, n. 1, p. 8-14, May 2003.

RICHMAN, D. D. Antiviral drug resistance. **Antiviral Res.**, v. 71, n. 2-3, p. 117-121, Sept. 2006.

ROBBINS, B. L. et al. Anti-Human Immunodeficiency Virus Activity and Cellular Metabolism of a Potential Prodrug of the Acyclic Nucleoside Phosphonate 9-*R*-(2-Phosphonomethoxypropyl) adenine (PMPA), Bis(isopropylloxymethylcarbonyl)PMPA. **Antimicrob. Agents Chemother.**, v. 42, n. 3, p. 612-617, Mar. 1998.

ROBERTS, D. L. et al. Fidelity of two retroviral reverse transcriptases during DNA-dependent DNA synthesis in vitro. **Mol. Cell Biol.**, v. 9, n. 2, p. 469-476, Feb. 1989.

ROBERTSON, D. L. et al. HIV-1 nomenclature proposal. **Science**, v. 288, n. 5463, p. 55-56, Apr. 2000.

SARAFIANOS, S. G. et al. Taking aim at a moving target: designing drugs to inhibit drug-resistant HIV-1 reverse transcriptases. **Curr. Opin. Struct. Biol.**, v. 14, n. 6, p. 716-730, Dec. 2004.

SCHROEDER, M. L.; RAYNER, H. L. Red cell, platelet and white cell antigens. In: LEE, G.R. et al. **Wintrobe's clinical hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p. 616-650.

SCOTT, J. D. Simplifying the treatment of HIV infection with ritonavir-boosted protease inhibitors in antiretroviral-experienced patients. **Am. J. Health Syst. Pharm.**, v. 62, n. 8, p. 809-815, May 2005.

SELIK, R. M. et al. Revised Surveillance Case Definition for HIV Infection - United States, **MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, v. 65, n. RR03, p. 1-10, Apr. 2014.

SHAFER, R. W. Genotypic testing for human immunodeficiency virus type 1 drug resistance. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 15, n. 2, p. 247-277, Apr. 2002.

SHAFER, R. W.; SCHAPIRO, J. M. HIV-1 drug resistance mutations: an updated framework for the second decade of HAART. **AIDS Rev.**, v. 2, n. 10, p. 67-84, June 2008.

SHARP, P. M.; HAHN, B. H. Origins of HIV and the AIDS pandemic. **Cold Spring Harb. Perspect. Med.**, v. 1, n. 1, p. 1-41, Sept. 2011.

SOUNDRAVALLY, R.; HOTI, S. L. Immunopathogenesis of dengue hemorrhagic fever and shock syndrome: role of TAP and HPA gene polymorphism. **Hum. Immunol.**, v. 68, n. 12, p. 973-973, Dec. 2007.

SPENCE, R. A. et al. Mechanism of inhibition of HIV-1 reverse transcriptase by nonnucleoside inhibitors. **Science**, v. 267, n. 5200, p. 988-993, Feb. 1995.

STAUNTON, D. E. et al. A cell adhesion molecule, ICAM-1, is the major surface receptor for rhinoviruses. **Cell**, v. 56, n. 5, p. 849-853, Mar. 1989.

THIO, C. L. et al. HIV-1, hepatitis B virus, and risk of liver-related mortality in the Multicenter Cohort Study (MACS). **Lancet**, v. 360, n. 9349, p. 1921-1926, Dec. 2002.

THIO, C. L. Hepatitis B and human immunodeficiency virus coinfection. **Hepatology**, v. 49, n. 5, p. S138-S145, Jan. 2009.

TURAL, C. et al. Clinical utility of HIV-1 genotyping and expert advice: the Havana trial. *AIDS*, v.16, n.2, p.209-218, Jan. 2002.

UNAIDS. **2014 GLOBAL STATISTICS**. Disponível em: <[http://www.unaids.org/sites/default/files/en/media/unaids/contentassets/documents/factsheet/2014/20140716\\_FactSheet\\_en.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/en/media/unaids/contentassets/documents/factsheet/2014/20140716_FactSheet_en.pdf)>. Acesso em: 28 May 2015.

UNAIDS. **Estatísticas**. Disponível em: <<http://unaids.org.br/estatisticas/>> Acesso em: 25 May 2015.

URBAN, S. et al. The replication cycle of hepatitis B virus. *J. Hepatol.*, v. 52 , n. 2, p. 282-284, Nov. 2009.

VAN HEUVERSWYN, F. et al. Human immunodeficiency viruses: SIV infection in wild gorillas. *Nature*, v. 444, n. 7116, p. 164-164, Nov. 2006.

VAN MAARSEVEEN, N. M. et al. An increase in viral replicative capacity drives the evolution of protease inhibitor-resistant human immunodeficiency virus type 1 in the absence of drugs. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.*, v. 42, n. 2, p. 162-168, June 2006.

VERDICHIO-MORAES, C. F. et al. Allelic frequencies of HPA-1 to 5 human platelet antigens in patients infected with hepatitis C vírus. *J. Med. Virol.*, v. 81, n. 4, p. 757-759, Feb. 2009.

WHITCOMB, J.M. et al. Hypersusceptibility to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors in HIV-1: clinical, phenotypic and genotypic correlates. *AIDS*, v. 16, n. 15, p. 41-47, Oct. 2002.

WHO. World Health Organization. **HIV/AIDS**. Disponível em: <[http://www.who.int/topics/hiv\\_aids/en/](http://www.who.int/topics/hiv_aids/en/)>. Acesso em: 29 Oct. 2015a.

WHO. World Health Organization. **Hepatitis B**. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs204/en/>>. Acesso em: 30 Oct. 2015b.

WICKHAM, T. J. et al. Integrins alpha v beta 3 and alpha v beta 5 promote adenovirus internalization but not virus attachment. **Cell**, v. 73, n. 2, p. 309-319, Apr. 1993.

ZACCARELLI, M. et al. Effect of suppressing HIV viremia on the HIV progression of patients undergoing a genotype resistance test after treatment failure. **Infection**, v. 37, n. 3, p. 203- 209, June 2009.

ZHUANG, J. et al. Human immunodeficiency virus type 1 recombination: rate, fidelity, and putative hot spots. **J. Virol.**, v. 76, n. 22, p. 11273-11282, Nov. 2002.