

**EFEITOS DA TERAPÊUTICA ANTI-RETROVÍRICA NOS
PARÂMETROS CLÍNICOS, VIROLÓGICOS E
IMUNOLÓGICOS NUMA POPULAÇÃO PEDIÁTRICA COM
INFECÇÃO PELO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA
HUMANA**

Isabel Gomes Abreu

Artigo de Investigação Médica
Mestrado Integrado em Medicina – 2012/2013

Porto, 2013

Isabel Gomes Abreu

**EFEITOS DA TERAPÊUTICA ANTI-RETROVÍRICA NOS
PARÂMETROS CLÍNICOS, VIROLÓGICOS E IMUNOLÓGICOS
NUMA POPULAÇÃO PEDIÁTRICA COM INFECÇÃO PELO VÍRUS
DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA**

Dissertação de candidatura ao grau de mestre em Medicina, submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, da Universidade do Porto

Autor: Isabel Gomes Abreu

Categoria: 6º Ano do Mestrado Integrado em Medicina

Afiliação: Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto

Endereço: isabelgomesabreu@gmail.com

Orientadora: Dr.^a Laura Marques

Grau Académico: Licenciada em Medicina pela Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Afiliação: Assistente do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto

ÍNDICE

RESUMO	3
PALAVRAS-CHAVE.....	4
ABSTRACT	5
KEY-WORDS.....	6
LISTA DE ABREVIATURAS	7
INTRODUÇÃO.....	8
OBJECTIVOS	10
MÉTODOS.....	10
Amostra em estudo	10
Análise estatística.....	12
RESULTADOS.....	13
Características da amostra	13
Avaliação dos parâmetros clínicos e laboratoriais após instituição da terapêutica anti-retrovírica combinada (TARc).....	16
Avaliação dos esquemas de terapêutica anti-retrovírica combinada, mudanças de esquemas e efeitos laterais associados	25
DISCUSSÃO	29
AGRADECIMENTOS.....	34
REFERÊNCIAS	35

RESUMO

Fundamento: A terapêutica anti-retrovírica combinada (TARc) teve um papel chave na redução da morbimortalidade associadas à infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH) pediátrica. É agora provável que uma criança com infecção pelo VIH consiga atingir a idade adulta, mantendo uma boa qualidade de vida nesse processo. Porém, esta melhoria nas taxa de sobrevivência implica, por sua vez, uma exposição vitalícia à TARc, sendo, por conseguinte, necessário avaliar se o efeito da mesma a nível do sistema imunitário e prevenção da progressão clínica é sustentado a longo-prazo. O risco cumulativo de desenvolvimento de resistência virológica e os efeitos adversos associados à terapêutica nesta fase também deve ser alvo de estudo.

Objectivo: Avaliar o efeito da TARc em termos de resposta clínica, recuperação imunológica e supressão vírica a curto e longo-prazo numa amostra de crianças e adolescentes com infecção VIH-1 adquirida por transmissão mãe-filho. Também se pretendeu avaliar a frequência e tipo de efeitos laterais associados à terapêutica.

Métodos: Foi realizado um estudo retrospectivo de 30 doentes em idade pediátrica com infecção VIH-1 seguidos em consulta externa no Centro Hospitalar do Porto – Hospital Geral Santo António entre 1996 e 2003. Foram avaliadas a carga vírica, percentagem de células T CD4⁺, scores z de crescimento estatura-ponderal e estadiamento clínico (segundo critérios do *Centers for Disease Control and Prevention*) antes da introdução da TARc e depois aos 3, 6 meses, 1, 3, 5 e 10 anos de tratamento. Foram ainda colhidas informações relativas a: tipo de combinações e modificações terapêuticas, adesão, padrões de resistência e efeitos laterais da TARc.

Resultados: O tempo mediano de *follow-up* foi de 5 anos (intervalo interquartis de 3-10 anos). Não houve mortes durante este período e apenas 2 crianças evoluíram para sintomatologia grave (por problemas de adesão à terapêutica).

Pudemos observar uma recuperação favorável dos scores z de peso/comprimento após a instituição da TARc. Um estágio clínico mais avançado na fase pré-TARc relacionou-se de forma estatisticamente significativa com uma menor capacidade de recuperação do crescimento estatura-ponderal. A carga vírica prévia à TARc foi significativamente superior àquelas que foram encontradas nos *follow-up's* ulteriores ($p < 0,001$ para 3 meses, 6 meses, 1, 3 e 5 anos, quando comparados com a carga vírica inicial). A supressão virológica foi atingida pela maioria dos doentes durante os *follow-up's*. Uma idade mais jovem e estágio clínico mais avançado estavam relacionados com maior

dificuldade em atingir esse objectivo. A recuperação imunológica foi demonstrada por aumentos significativos na mediana da percentagem de células T CD4⁺ aos 3,6 meses 1 ano quando comparados com os valores obtidos previamente à TARc (p=0,045; p=0,01; p<0,001, respectivamente). Os nossos resultados sugerem que a introdução da TARc de forma precoce (antes dos 12 meses de idade) é benéfica em termos de capacidade de recuperação do sistema imunitário. Finalmente, pudemos verificar que 4 dos nossos doentes estão já no seu sexto regime de TARc. As alterações do perfil lipídico e a intolerância gastrointestinal constituirão os efeitos laterais associados à terapêutica mais frequentes.

Conclusões: De uma forma geral, este estudo permitiu demonstrar que a recuperação dos *scores* de crescimento estatura-ponderal, da percentagem de células T CD4⁺ e o controlo da progressão clínica e da carga vírica foi não só compatível com o que era expectável para uma fase inicial pós introdução da terapêutica mas também que essa mesma resposta se manteve durante todo o período de estudo da amostra. Porém, os resultados obtidos também geram preocupações relativamente ao nível de exposição de alguns doentes a vários esquemas de TARc, o que pode ser um factor limitante no futuro de outras opções terapêuticas. Sugerimos, por isso, um estudo prospectivo, colaborativo e a uma escala nacional por forma a avaliar melhor as possíveis alterações da eficácia da TARc com o tempo.

PALAVRAS-CHAVE: VIH-1; crianças; TARc; supressão virológica; recuperação imunológica; anormalidades metabólicas.

ABSTRACT

Background: Combination antiretroviral therapy (cART) had a major role in reducing paediatric human immunodeficiency virus infection (HIV) related morbidity/mortality. It is now likely that children with HIV reach adulthood with fairly good quality of life. However, improved survival will imply a life-long exposure to cART, therefore being necessary to evaluate if the effect of cART on immunologic function and clinical HIV progression is sustained over long periods of time. The risk of cumulative virologic resistance and potential serious drug-related side effects during these periods also needs to be addressed.

Objective: To evaluate the effect of cART on immediate and long-term clinical outcome, immunologic recovery and virologic suppression on a group of children and adolescents with mother-to-child HIV-1 infection. We also aimed to determine the rate and type of side-effects reported during this observation.

Methods: A retrospective study was conducted of 30 HIV-1 infected paediatric patients who were clinically followed at Centro Hospitalar do Porto – Hospital Geral Santo António between 1996 and 2003. We evaluated viral load, CD4⁺ cells percentage counts, growth z scores and clinical stage (using the *Centers for Disease Control and Prevention's* criteria) before initiating cART and then 3 months, 6 months, 1, 3, 5 and 10 years later. Regimen combinations and modifications, adherence, resistance patterns and drug-related side effects were also evaluated.

Results: The median follow-up time was 5 years (interquartile range 3-10 years), during which there were no deaths and only 2 children became severely symptomatic secondarily to poor adherence problems. We found a positive recovery of weight/height z scores after cART initiation. Advanced clinical stage at baseline related (in a statistically significant manner) to diminished capacity of growth recovery. Viral load prior to cART was significantly higher than viral loads thereafter ($p < 0,001$ for 3 months, 6 months, 1, 3 and 5 years compared to baseline viral load). Virologic suppression was achieved in the majority of patients in all follow-ups, although earlier age and advanced clinical disease apparently made it more difficult to achieve it. Immunologic recovery was also proven, with significant rises of median T CD4⁺ cells percentage at 3, 6 months and 1 year follow-ups, when compared to the corresponding values at baseline ($p = 0,045$; $p = 0,01$; $p < 0,001$, respectively). Our results suggest an beneficial role of early age at cART introduction

(less than 12 months) on immunologic recovery. Finally, we were able to observe that there were already 4 patients on their sixth cART regimen. Lipid profile abnormalities and gastrointestinal intolerance were the most frequent drug-related side effects findings.

Conclusions: Overall, we were able to demonstrate that the recovery induced by the introduction of cART on growth scores and CD4⁺-T cells percentage counts as well as virus load control and prevention of disease progression, were not only compatible with what was expected on a more immediate phase but also that it persisted throughout the entire observational period of our study. However, we hereby express our concerns with the fact that some of our patients are becoming very cART-experienced, which may pose as an important limiting factor to future regimen options. We suggest a new collaborative, larger and prospective study in order to better evaluate the possible temporal changes in cART efficiency.

KEY-WORDS: HIV-1; paediatric; cART; virologic response; immunological recovery; metabolic abnormalities.

LISTA DE ABREVIATURAS

TMF – Transmissão mãe-filho

VIH-1 – Vírus da imunodeficiência humana tipo 1

TARc – Terapêutica anti-retrovírica combinada

CHP – Centro Hospitalar do Porto

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida

CDC – *Centers for Disease Control and Prevention*

CV – Carga vírica

SD – Desvio-padrão

NITR - Análogos nucleósidos/nucleótidos inibidores da transcriptase reversa

NNITR – Análogos não nucleósidos inibidores da transcriptase reversa

IP – Inibidores da protease

II – Inibidor da integrase

INTRODUÇÃO

A transmissão mãe-filho (TMF) da infecção do vírus da imunodeficiência humana (VIH) continua a ser a principal causa de infecção VIH nas crianças. Nos países desenvolvidos, o recurso a métodos preventivos dessa transmissão (combinação de fármacos anti-retrovíricos profiláticos durante a gravidez e peri-parto, cesariana electiva, profilaxia no recém-nascido e evitação do aleitamento materno) permitiu reduzir a ocorrência de novos casos de infecção VIH pediátrica em pelo menos 70%, com o risco actual de TMF situado já em menos de 2% (1, 2).

A patogénese da infecção VIH na população pediátrica apresenta características únicas que devem ser consideradas e reconhecidas, dada a sua implicação na abordagem diagnóstica, determinação do *timing* ideal para início do tratamento e resposta esperada ao mesmo.

A infecção ocorre geralmente no período peri-natal, uma fase de relativa imaturidade imunológica e na qual, por conseguinte, se verifica uma destruição inicial intensa da produção linfocitária ao nível do timo mediada pelo vírus, contribuindo assim para os elevados níveis de viremia que se observam neste período (3).

O próprio padrão da carga vírica das crianças infectadas por TMF é também distinto daquele que se observa nos adolescentes e adultos: a carga vírica persiste elevada durante pelo menos os primeiros 12 meses de vida, com posterior diminuição, lenta mas progressiva, nos anos seguintes (4, 5).

O modelo de evolução clínica nas crianças configura uma outra diferença entre estas e os adultos: o risco de progressão clínica para SIDA (Síndrome de Imunodeficiência Humana Adquirida) e morte é maior nos primeiros anos de vida, sendo este risco independente do valor de linfócitos T CD4⁺ nas crianças com menos de 12 meses (6, 7), atingindo-se posteriormente uma estabilização do risco de progressão nas crianças mais velhas. Este padrão é o motivo pelo qual existam indicações formais actualmente para iniciar terapêutica anti-retrovírica o mais precocemente possível (5, 8).

A interpretação dos valores das contagens absolutas e percentagens de linfócitos T CD4⁺ nas crianças constitui um outro desafio: mesmo em crianças não infectadas, a contagem normal de linfócitos T CD4⁺ é superior àquela observada nos adultos, diminuindo gradativamente até atingir valores próximos dos adultos aos 5 anos de idade, o que implica que a avaliação do risco de progressão clínica nas crianças infectadas pelo VIH seja dependente da idade (9). Para além disso, a capacidade de recuperação/reconstituição imunológica observada nas crianças deve-se essencialmente à produção contínua e sustentada de novas células T CD4⁺ *naïve* pelo timo que compensam a depleção periférica das mesmas, tornando assim possível que seja

atingida uma resposta imunológica efectiva mesmo quando não há supressão virológica concomitante, o que constitui um mecanismo imunológico de resposta à infecção pelo VIH que não existe nos adultos (10, 11).

A introdução da terapêutica anti-retrovírica combinada (TARc) nos meados da década de 90 do século XX permitiu reformular de forma significativa a história natural da doença, com redução da morbilidade - menor frequência de infecções oportunistas e evolução para SIDA - e da taxa de mortalidade associada, com um declínio superior a 80-90% desde o advento da TARc (5, 11, 12).

Existem, de momento, 5 classes principais de fármacos anti-retrovíricos autorizadas para uso pediátrico: análogos nucleósidos/nucleótidos inibidores da transcriptase reversa (NITR's); análogos não nucleósidos/nucleótidos inibidores da transcriptase reversa (NNITR's); inibidores da protease (IP's); inibidores de entrada (que inclui os inibidores de fusão) e inibidores da integrase. À luz do conhecimento actual, a TARc com pelo menos 3 fármacos de 2 classes diferentes constitui a recomendação para o esquema inicial de crianças e adolescentes com VIH, por ter sido demonstrado que estes esquemas atrasam a progressão clínica, aumentam a sobrevida, garantem uma resposta imunológica e virológica mais sustentada e ainda retardam o desenvolvimento de mutações víricas com consequente resistência aos fármacos em utilização (13-15).

Todavia, continuam a subsistir limitações relevantes à utilização da TARc na população pediátrica, das quais se destacam: um menor número de fármacos disponíveis em formulação pediátrica; informação insuficiente sobre farmacocinética e perfis de segurança em idade pediátrica; necessidade de ajuste de doses contínuo de acordo com o crescimento e dificuldade na adesão (má palatabilidade, comprimidos de difícil deglutição, esquemas de administração complexos)(16).

Para além disso, existem dúvidas sobre o benefício a longo prazo da instituição precoce da TARc uma vez que estas crianças e adolescentes estarão sob o efeito da terapêutica virtualmente durante toda a sua vida. Há uma preocupação crescente com o possível desenvolvimento de efeitos laterais da terapêutica a curto, médio e longo prazo, até potencialmente superiores àqueles observados nos doentes adultos, como é o caso das alterações do metabolismo lipídico e da glucose e da instalação de quadros de lipoatrofia/lipodistrofia (17) e síndrome metabólica, todos eles possíveis contribuidores para um risco cardiovascular aumentado na idade adulta (18). A dificuldade na manutenção de uma adesão adequada a um tratamento que é vitalício e finalmente, ocorrência de padrões de multiresistência com consequente diminuição das armas terapêuticas disponíveis (19) justificam, no seu total, a necessidade de avaliar a evolução destes doentes ao longo do seu crescimento, para poder assegurar a sustentabilidade de esquemas terapêuticos eficazes e tentar prevenir os seus efeitos deletérios.

OBJECTIVOS

Avaliação da progressão clínica da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, carga vírica e linfócitos T CD4⁺ em crianças e adolescentes sob tratamento crónico com anti-retrovíricos, bem como descrição de efeitos laterais relacionados com a terapêutica anti-retrovírica.

MÉTODOS

Amostra em estudo

Foram avaliadas as crianças e adolescentes (0 a 18 anos) com diagnóstico de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) que frequentaram a consulta externa de Imunologia Pediátrica da Unidade de Infecçologia e Imunodeficiências do Serviço de Pediatria do Centro Hospitalar do Porto (CHP) entre 1996 e 2013. Foram incluídas apenas aquelas que iniciaram TARc entre Janeiro 1998 e Dezembro 2012.

As informações demográficas, clínicas, laboratoriais e relacionadas com os *follow-up's* dos doentes foram colhidas de forma retrospectiva através dos processos clínicos em papel disponibilizados pelo Arquivo Hospitalar do CHP e do Sistema de Apoio Médico®, com preservação do anonimato.

De um total de 40 doentes que cumpriam estes critérios, foram incluídos 30 e excluídos 10. Dos 10 excluídos, 7 não tinham processo clínico disponível para consulta dos dados e 3 nunca reuniram critérios para iniciar terapêutica anti-retrovírica durante todo o seu seguimento.

A amostra foi formada por 30 casos (n=30), sendo que para cada caso foi estabelecido um tempo *baseline* - que correspondia à data de início da TARc – e tempos de *follow-up*, realizados aos 3 meses, 6 meses, 1 ano, 3 anos, 5 anos e 10 anos após a introdução da terapêutica. A avaliação era terminada caso o doente atingisse os 18 anos de idade ou a data de *follow-up* ocorresse após Junho 2013.

Na consulta *baseline*, foram colhidas características sociodemográficas (inclusive dados antropométricos), via de transmissão da infecção e realização de profilaxias materna e neonatal, idade e do *timing* do diagnóstico (“precoce”, na sequência do seguimento peri-natal das mães infectadas e até aos 6 meses de idade; “tardio”, se diagnóstico após os 6 meses de idade); estadiamento clínico de acordo com os critérios

de classificação do CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) para crianças (<13 anos)(20) e adolescentes (≥ 13 anos)(21); avaliação laboratorial - carga vírica e percentagem de linfócitos T CD4⁺ - e finalmente, idade do início do tratamento e esquema de TARc iniciado, estratificado de acordo com as classes principais de fármacos utilizados. A introdução da terapêutica foi considerada “precoce” quando era instituída antes dos 12 meses de idade e “tardia” quando instalada em idade superior ou igual a 12 meses.

Nas datas dos *follow-ups* acima descritas, foram novamente avaliados: idade, estadiamento clínico, parâmetros relativos ao crescimento (peso, comprimento/estatura) e avaliação laboratorial (com inclusão dos parâmetros anteriormente descritos).

As mudanças nos esquemas de TARc foram classificadas como: secundárias a falência virológica; falência imunológica; falência clínica; secundárias a toxicidade ou intolerância e outras (que incluiu: remoção comercial do nelfinavir; alterações das *guidelines* de tratamento ou simplificações de esquema)(5, 22). Os perfis de resistência realizados foram classificados de acordo com a(s) classe(s) do(s) fármaco(s) afectadas. Foi assumida resistência virológica a uma determinada classe de anti-retrovíricos a partir do momento em que houvesse resistência a pelo menos 1 fármaco dessa classe. Portanto, o número e tipo específico de fármacos dentro de cada grupo de anti-retrovíricos não foram considerados.

Os efeitos laterais associados à terapêutica foram determinados por descrição da sua ocorrência no processo clínico e/ou através de alterações compatíveis nos valores do perfil lipídico e função renal (creatinina e ureia séricas)(23).

A adesão à terapêutica foi classificada como “Boa” ou “Má” de acordo com os “*self-reports*” (dos doentes e/ou dos seus cuidadores) e informações da farmácia hospitalar, registados nos processos clínicos.

A resposta clínica à terapêutica foi avaliada com base em: categoria de estadiamento clínico em cada *follow-up*; evolução do crescimento estatura-ponderal [utilizando, para tal, os *scores z* para peso e comprimento/altura ajustados à idade e género, em que um *score z* de 0 corresponde ao percentil 50 (24, 25)] e frequência de episódios de intercorrências clínicas infecciosas, que foram estratificados em 4 graus de gravidade crescente (1- Ligeira: sem necessidade de antibioterapia sistémica; 2- Moderada: com necessidade de antibioterapia sistémica ou com interferência mais do que mínima nas actividades diárias; 3 – Severa: com necessidade de antibioterapia sistémica e com impedimento da realização das actividades de vida diárias ou com necessidade de intervenção cirúrgica e 4- Potencialmente fatal). Caso ocorresse mais do que um evento infeccioso com graus diferentes, era seleccionado o evento com grau mais elevado de severidade (23).

A resposta a nível imunológico foi determinada por observação da percentagem de linfócitos T CD4⁺ ao longo dos *follow-up's*. O recurso à análise das contagens absolutas de linfócitos T CD4⁺ não foi realizado, pela maior influência da variabilidade de idades dos doentes nos valores deste parâmetro (5).

A resposta virológica foi feita por avaliação da carga vírica e atingimento de supressão virológica em cada *follow-up*, definida como carga vírica indetectável. A ocorrência de *blips* – episódios isolados de viremia com valores de carga vírica inferiores a 1000 cópias/mL e subsequente retorno a um estado de supressão viral - não foram valorizados porque não constituem falência virológica e ocorrem comumente nos doentes sob tratamento com TARc (5).

Análise estatística

Os dados recolhidos foram codificados, registados e analisados através dos programas Excel® e SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) for Windows 21.0®.

O estudo foi predominantemente descritivo, uma vez que o tamanho reduzido da amostra não permitiu, nomeadamente com análises de subgrupos da mesma, verificar os pressupostos necessários para aplicação dos testes estatísticos.

As variáveis qualitativas foram descritas por frequências/percentagens e as quantitativas por médias e desvio-padrão (SD); em caso de distribuições muito assimétricas, as variáveis quantitativas foram descritas em mediana e intervalos interquartis 25-75 (como os *scores z* para peso e comprimento/estatura ajustado à idade e género). Foi aplicado o teste *Wilcoxon* para avaliação de diferenças nos *scores z* de peso e comprimento/estatura ajustados à idade entre *follow-up's*, bem como diferenças nas médias das percentagens de linfócitos CD4⁺ e de carga vírica entre *follow-up's*. O teste de *McNemar* foi aplicado para avaliação de variáveis categóricas constantes para o mesmo doente ao longo dos *follows-up's*, como a adesão terapêutica, estadiamento clínico, intercorrências clínicas e efeitos laterais. O *Student's Independent t test* foi aplicado para avaliar correlações entre variáveis contínuas (sobretudo percentagem de linfócitos CD4⁺ e carga vírica) e variáveis categóricas ao longo do tempo. O teste do qui-quadrado de *Pearson* (adaptado à dimensão da amostra por meio da correcção de *Fisher*) foi utilizado para analisar associações entre *sets* de variáveis categóricas distintas entre *follow-up's*.

Um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$) foi definido como representativo de significado estatístico para todos os testes estatísticos aplicados.

RESULTADOS

Características da amostra

A amostra foi constituída por um total de 30 doentes, com um predomínio do género feminino (60%). A idade média dos doentes à data do início do acompanhamento na consulta externa era de 32 ($\pm 42,7$) meses e o tempo médio de *follow-up* foi de 6 ($\pm 3,4$) anos (mediana: 5 anos; intervalo interquartil: 3-10 anos).

As características demográficas e clínicas da amostra estão resumidas na tabela I. A tabela III resume a informação relativa ao último *follow-up* disponível para cada doente.

Via de transmissão e *timing* do diagnóstico

A origem da infecção foi, na totalidade dos casos (100%), via transmissão mãe-filho. Nas crianças nascidas antes do ano 2000 (ou seja, antes da implementação do primeiro rastreio oficial da TMF em Portugal), 9 foram diagnosticadas após os 6 meses e apenas 2 tiveram diagnóstico precoce. Das crianças nascidas entre 2000 e 2004 (ano da introdução das serologias também no terceiro trimestre da gravidez), 3 foram diagnosticadas após os 6 meses e 5 foram diagnosticadas precocemente. Finalmente, nas crianças que nasceram depois de 2004 (inclusive), 5 tiveram diagnóstico precoce e 6 diagnóstico tardio. Foi realizada profilaxia materna em apenas 5 dos casos (16,7%) e profilaxia neonatal em 9 casos (30%).

A idade média de diagnóstico no subgrupo de doentes com detecção precoce da infecção foi de 2,7 ($\pm 1,3$) meses (mínimo: 1 mês de idade; máximo 6 meses) enquanto no subgrupo de doentes com diagnóstico tardio a idade média foi de 3,6 ($\pm 3,6$) anos (mínimo: 7 meses de idade; máximo: 13 anos).

Estadiamento clínico pré-TARc

De acordo com os critérios de estadiamento clínico do CDC (20, 26), 13 doentes (43,3%) estavam classificados inicialmente como N (assintomáticos); 5 (16,7%) como A (ligeiramente sintomáticos); 7 (23,3%) como B (moderadamente sintomáticos) e 5 (16,7%) como C (com sintomatologia severa/definidora de SIDA). Dos doentes classificados como C, 1 deles teve pneumonia por *Pneumocystis jirovecii*; encefalopatia e cardiomiopatia secundárias ao VIH; 1 doente foi diagnosticado com cardiomiopatia e encefalopatia pelo VIH; 1 doente foi diagnosticado com encefalopatia pelo VIH; 1 doente teve uma infecção sistémica por *Cytomegalovirus* e 1 doente teve atraso persistente do crescimento estatura-ponderal.

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre o estadiamento clínico entre os subgrupos “diagnóstico precoce” e “diagnóstico tardio”.

Intercorrências clínicas infecciosas pré-TARc

Foram registadas intercorrências clínicas infecciosas nesta fase em 21 dos 30 doentes, com 7 doentes (33,3%) a apresentarem episódios grau 1 ou 2 e 14 (66,7%) com ocorrências grau 3 ou 4. Não foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa para a ocorrência de intercorrências mais graves (grau 3/4) quando comparados os subgrupos entre si de: estadiamento clínico N,A ou B *versus* C ou doentes com diagnóstico precoce *versus* tardio.

Crescimento estatura-ponderal

No que diz respeito aos parâmetros de avaliação do crescimento estatura-ponderal, a mediana (e desvio padrão) obtida para os *scores z* de peso e comprimento/estatura ajustado à idade/género para os indivíduos classificados inicialmente como N, A ou B era de -1,2 ($\pm 1,7$) e -1,6 ($\pm 2,2$), respectivamente. Já no subgrupo de doentes inicialmente categorizados no estágio C, os valores da mediana e desvio padrão do *score z* para o peso eram de -3,7 ($\pm 1,3$) e -3,8 ($\pm 1,1$) para o *score z* do comprimento/estatura.

Relativamente a estes *scores*, foi verificada uma correlação negativa entre o *score z* do peso nesta avaliação inicial e um estágio clínico mais avançado (categoria C), apresentando estes doentes então uma média de -4,1 ($\pm 1,2$) *versus* uma média de -1,35 ($\pm 1,7$) para os doentes em categorias clínicas menos graves ($p=0,003$). Esta correlação negativa não foi encontrada para o *score z* de comprimento/estatura.

Carga vírica inicial

A carga vírica (CV) inicial era, em 80% dos casos, superior a 100,000 cópias/mL.

No subgrupo de doentes com diagnóstico precoce, 1 doente (8,3%) tinha CV entre 1000 e 99,999 cópias e os restantes 11 (91,7%) tinham CV igual ou superior a 100,000 cópias/mL. No subgrupo do diagnóstico tardio, houve registo de 1 doente (5,6%) com CV entre 50-999 cópias/mL; 3 doentes (16,7%) com CV entre 1000 e 99,999 cópias/mL e 14 (77,8%) com CV igual ou superior a 100,000 cópias/mL.

O estadiamento clínico mais avançado nesta fase ou o *timing* do diagnóstico não tiveram impacto estatisticamente significativo nos valores da viremia pré-TARc encontrados.

Tabela I – Características demográficas e clínicas pré-tratamento

Características	Frequência/Percentagem (n=30)
Gênero	
Masculino	12 (40%)
Feminino	18 (60%)
Via de transmissão	
Mãe-filho	30 (100%)
Diagnóstico precoce	
Sim	12 (40%)
Não	18 (60%)
Profilaxia neonatal	
Sim	9 (30%)
Não	21 (70%)
Idade do diagnóstico VIH-1	
≤ 6 meses	12 (40%)
7 meses - 4 anos	14 (46,7%)
≥ 5 anos	4 (13,3%)
Média em meses (±SD)	27 (±38,5)
Estadiamento inicial segundo critérios CDC	
Categorias N/A/B	25 (83,3%)
Categoria C	5 (16,7%)
Weight-for-age score z^a	-1,39 (-3,15 a -0,45) ^b
Height-for-age score z	-1,8 (-3,1 a -0,4) ^c
Percentagem linfócitos CD4⁺ pré-tratamento	
<15%	9 (30%)
15-24%	4 (13,3%)
≥25%	14 (46,7%)
Missing	3 (10%)
Carga vírica pré-tratamento (cópias/mL)	
≤ 50	0 (0%)
> 50-999	1 (3,3%)
1000-99,999	4 (13,3%)
≥ 100,000	25 (83,3%)
Idade de início do tratamento	
≤ 6 meses	11 (36,7%)
7 meses – 4 anos	13 (43,3%)
≥ 5 anos	6 (20%)
Idade média (em meses) (±SD)	35 (±47)
Tempo médio de <i>follow-up</i> (em anos) (±SD)	6 (± 3,4)
	Mediana: 5 anos
	Mínimo: 6 meses
	Máximo: 10 anos

^a - Os valores dos *scores z* para peso e comprimento/estatura ajustados à idade e género foram expressos em mediana e intervalo inter-quartil (IQR). Um *score z* de 0 corresponde ao percentil 50 (P50).

^b - n=28 ; ^c - n=27

Estado imunológico pré-TARc

Verificou-se que 30% dos doentes tinham uma percentagem de linfócitos T CD4⁺ inicial inferior a 15% e 46,7% apresentavam valores superiores a 25% nesta fase.

No subgrupo de doentes com diagnóstico precoce, 3 doentes (30%) tinham uma percentagem de linfócitos T CD4⁺ inferior a 15% e 7 (70%) tinham uma percentagem superior ou igual a 25%. No grupo de doentes com diagnóstico tardio, 5 doentes (31,3%) tinham valores inferiores a 15%; 4 (25%) tinham percentagens de linfócitos T CD4⁺ entre os 15-24% e 7 apresentavam valores iguais ou superiores a 25%.

Não foi possível relacionar de forma estatisticamente significativa os estádios clínicos mais avançados com um valor mais baixo de linfócitos T CD4⁺ inicial, mas será importante referir que os 3 doentes classificados como C nesta fase e que tinham valores disponíveis de percentagem de linfócitos T CD4⁺ na consulta *baseline* tinham valores inferiores a 15%.

Avaliação dos parâmetros clínicos e laboratoriais após instituição da terapêutica anti-retrovírica combinada (TARc)

A descrição dos resultados obtidos em cada um dos *follow-up's* que se seguiram à introdução da terapêutica vai ser dividida em: resposta clínica, virológica e imunológica. Os resultados encontram-se sumarizados na tabela II e nas figuras 1 e 2.

Resposta clínica à instituição da TARc

***Follow-up* 3 meses**

Estadiamento clínico

Nesta fase, 12 doentes (40%) mantinham-se no estádio clínico N; 6 (20%) estavam classificados como A; 7 (23,3%) encontravam-se na categoria B e 5 (16,7%) estavam definidos como C. Foi possível constatar que 1 doente progrediu clinicamente de N para A nesta fase.

Intercorrências clínicas infecciosas

Apenas 11 dos 30 doentes (36,7%) tiveram episódios de intercorrências aos 3 meses, sendo que 4 (36,4%) foram de grau 1; 4 (36,4%) de grau 2; 2 (18,2%) de grau 3 e finalmente 1 (9,1%) de grau 4. Não houve diferença estatisticamente significativa em termos de frequência de intercorrências clínicas infecciosas graves (grau 3 e 4) para os subgrupos: início de tratamento precoce *versus* tardio; estadiamento clínico N/A/B *versus* estadiamento C ou entre doentes que haviam atingido supressão virológica nesta fase e doentes em que tal não se tivesse verificado.

Evolução estaturponderal

Observou-se uma diferença estatisticamente significativa do *score z* para o peso ajustado à idade e género entre a consulta *baseline* e o *follow-up* dos 3 meses (-1,39 a -0,8; $p=0,008$). O mesmo não se verificou para a diferença de *score z* de comprimento/altura ajustado à idade/género.

Foi também possível estabelecer uma correlação negativa entre estar classificado clinicamente neste *follow-up* como C e ter *scores z* de peso e comprimento/estatura ajustados mais baixos quando comparados com doentes classificados como N, A ou B: a mediana obtida para o *score z* de peso foi de -3,44 para doentes C e de -0,7 para os doentes nos estádios N/A/B, com $p<0,001$. Similarmente, a média do *score z* para comprimento/estatura para os doentes na categoria C foi de -3,9, enquanto a média desse mesmo *score z* para doentes nas categorias N/A/B foi de -1,1 ($p<0,001$).

Follow-up 6 meses

Estadiamento clínico

Neste *follow-up* 9 doentes (30%) mantiveram-se na categoria N; 7 (23,3%) foram classificados como A; 7 (23,3%) como B e 7 (23,3%) como C, o que corresponde à evolução de 1 doente de N para A e de 2 doentes para C (SIDA). O diagnóstico nestes últimos 2 doentes de patologias definidoras de SIDA ocorreu, num dos casos, aos 6 meses de idade (episódio de pneumonia por *Pneumocystis jiroveci*) e noutra aos 11 meses de idade (confirmação de encefalopatia por VIH). Será importante referir que estas duas crianças deveriam estar a realizar TARc e profilaxia de infeções oportunistas mas devido a condições sócio-económicas e familiares, a medicação não foi administrada correctamente, o que contribuiu para a ocorrência desta progressão.

Intercorrências clínicas infecciosas

16 doentes (53,3%) tiveram registo de intercorrências clínicas, das quais: 10 (62,5%) foram classificadas como grau 1; 3 (18,8%) como grau 2; 1 (6,3%) como grau 3 e 2 (12,5%) como grau 4. Houve uma correlação positiva ($p= 0,025$) entre os estádios clínicos mais precoces da infeção (N;A e B) e a frequência de intercorrências clínicas infecciosas de um grau mais leve/moderado (grau 1 e 2). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas em termos de gravidade das intercorrências clínicas e os subgrupos: doentes que iniciaram TARc de forma precoce (*versus* início tardio) ou doentes que haviam atingido a supressão virológica aos 6 meses (*versus* os que não tinham carga vírica suprimida aos 6 meses).

Evolução estaturponderal

Não houve diferenças estatísticas significativas entre os scores z de peso e comprimento/estatura ajustados à idade e género entre o *follow-up* dos 3 meses e o dos 6 meses. Porém, verificou-se uma correlação negativa (e estatisticamente significativa) entre estes scores e um estadiamento clínico mais avançado (categoria C). A mediana do score z para o peso ajustado à idade/género foi de -2,6 para doentes na categoria C *versus* -0,49 para os doentes classificados como N,A ou B ($p < 0,001$). Por sua vez, a mediana do score z para o comprimento/estatura ajustado à idade/género foi de -2,7 para os doentes classificados como C e de -1,3 para aqueles classificados como N, A ou B ($p = 0,023$).

Follow-up 1 ano

Estadiamento clínico

À data deste *follow-up*, 9 doentes (31%) eram N; 7 (24,1%) eram A; 6 (20,7%) eram B e 7 (24,1%) eram C, não tendo ocorrido nenhuma progressão clínica do *follow-up* anterior para este.

Intercorrências clínicas infecciosas

Apenas 15 dos 29 doentes tiveram intercorrências clínicas, sendo que 8 (53,3%) foram de grau 1; 6 (20%) foram de grau 2; 1 caso (6,7%) foi grau 3 e não houve nenhum registo (0%) de episódios de grau 4. Não foram determinadas diferenças estatisticamente significativas em termos de gravidade das intercorrências clínicas neste *follow-up* e os sub-grupos: início de tratamento precoce *versus* tardio; doentes com supressão virológica e sem supressão virológica e doentes categorizados clinicamente como N/A/B *versus* estágio C.

Foi, no entanto, observado que existia uma redução estatisticamente significativa da ocorrência de intercorrências clínicas infecciosas graves (grau 3 ou 4) 1 ano após a introdução da TARc, quando comparada com a mesma ocorrência antes do início do tratamento ($p = 0,008$, utilizando o teste de *McNemar*).

Evolução estaturponderal

Relativamente à evolução dos scores z para peso e comprimento/altura ajustados à idade e género, não foi obtida uma diferença significativa entre os dados deste *follow-up* e o anterior. À semelhança do que ocorreu nos *follow-up's* anteriores, foi observada uma correlação negativa entre medianas de scores z para peso e comprimento/estatura ajustados à idade e género e estádios clínicos mais avançados (categoria C) ($p < 0,001$

para média do *score z* de peso e $p < 0,001$ para média do *score z* de comprimento/estatura).

Follow-up 3 anos

Estadiamento clínico

Dos 26 doentes que integravam o *follow-up* de 3 anos, 7 (26,9%) encontravam-se na categoria N; 8 (30,8%) na categoria A; 4 (15,4%) na categoria B e 7 (26,9%) na categoria C do estadiamento clínico, o que representou a evolução de 1 doente da categoria N para a categoria A.

Intercorrências clínicas infecciosas

As intercorrências clínicas ocorreram em 21 (70%) dos doentes presentes no *follow-up* dos 3 anos, com 6 doentes (28,6%) com episódios de grau 1; 7 (33,3%) com eventos de grau 2; 7 (33,3%) com eventos de grau 3 e 1 doente (4,8%) com apresentação de pelo menos uma intercorrência de grau 4. Os doentes que apresentavam supressão virológica neste *follow-up* tiveram uma frequência relativa de intercorrências mais leves (grau 1 e 2) do que graves (graus 3 e 4) – 63,4% e 36,4%, respectivamente. Contudo, não houve uma diferença estatisticamente significativa entre o grau de supressão virológica e a ocorrência de intercorrências mais graves. Similarmente, não foi encontrada uma diferença significativa entre os indivíduos categorizados clinicamente como C em termos de estadiamento com a ocorrência de eventos infecciosos mais graves (grau 3 ou 4).

Evolução estaturó-ponderal

Após a aplicação do teste de *Wilcoxon*, verificou-se uma evolução positiva do *score z* do peso ajustado à idade/género entre o *follow-up* “1 ano” e o *follow-up* “3 anos”, com valor estatístico (-0,65 a -0,19; $p=0,001$), bem como do *score z* do comprimento/estatura ajustado à idade (-1,05 a -0,6; $p=0,017$).

Também foi possível verificar que os doentes que se encontravam classificados como C nesta fase apresentaram uma mediana de *score z* para o peso ajustado à idade e género inferior aos doentes classificados como N, A ou B ($p=0,007$). O mesmo não foi observado para o *score z* de comprimento/estatura.

Follow-up 5 anos

Estadiamento clínico

Neste *follow-up* – constituído por um total de 22 casos - 6 doentes (27,3%) estavam classificados clinicamente como N; 8 (36,4%) como A; 3 (13,6%) como B e 5 (22,7%)

como C. Houve, portanto, progressão de 1 doente da categoria N para a categoria A, enquanto os restantes se mantiveram estáveis clinicamente.

Intercorrências clínicas infecciosas

Houve episódios de intercorrências em 17 (77,3%) casos, sendo que 7 (41,2%) foram eventos grau 1; 4 (23,5%) foram eventos grau 2 e 6 (35,3%) foram de grau 3. Não surgiram eventos de grau 4 durante este *follow-up*. Não foram encontradas correlações estatisticamente significativas entre a ocorrência de episódios infecciosos graves (grau 3 e 4) e o estadiamento clínico mais grave (estádio C) ou a ausência de supressão virológica.

Evolução estatura-ponderal

Refira-se ainda que não houve diferenças significativas em termos de *scores z* de avaliação do crescimento estatura-ponderal (peso e comprimento/estatura ajustados à idade/género) entre este *follow-up* e o anterior.

Todavia, foi observada uma correlação negativa entre o *score z* do peso ajustado à idade/género para os doentes que, neste *follow-up*, estavam classificados clinicamente como C ($p=0,003$), quando feita a comparação do mesmo *score* com os doentes em estádios clínicos menos graves. Não foi verificada uma diferença estatisticamente significativa para estes dois subgrupos no que diz respeito ao *score* do comprimento/estatura.

Follow-up 10 anos

Estadiamento clínico

Finalmente, neste último *follow-up*, não houve progressão clínica de nenhum dos doentes, com 2 indivíduos (16,7%) classificados clinicamente como N; 3 (25%) como A; 3 (25%) como B e 4 (33,3%) como C.

Intercorrências clínicas infecciosas

Verificou-se que 11 dos 12 doentes (91,7%) deste *follow-up* tiveram intercorrências, com maior frequência dos eventos de grau 3 (45,5%) e apenas 1 caso (9,1%) de intercorrência de grau 4 que ocorreu num dos doentes classificado clinicamente como C. Mais uma vez, não foram evidentes diferenças estatísticas significativas entre o estágio clínico ou a ausência de resposta virológica e a ocorrência de eventos infecciosos mais graves.

Evolução estaturponderal

Não se observaram diferenças entre os scores z obtidos para peso e comprimento/estatura ajustado para a idade e género entre este *follow-up* e o anterior.

Contudo, e a acompanhar o que já havia sido observado na maior parte dos *follow-up's* prévios, foi encontrada uma correlação entre medianas de scores para o peso e comprimento/estatura mais baixas nos doentes classificados nesta fase como C, quando comparados com os doentes N, A ou B ($p=0,004$ para correlação negativa do score de peso e $p=0,021$ para correlação negativa do score de comprimento/estatura).

Resposta virológica à instituição da TARc

A evolução da carga vírica (CV) está representada na Figura 1. De notar que no último *follow-up* (aos 10 anos), nenhum doente apresentava um valor de carga vírica superior a 100,000 cópias/mL.

Apesar disso, quando se comparou a mediana da carga vírica inicial com as medianas da carga vírica dos vários *follow-up's*, conseguiu demonstrar-se que houve uma redução da viremia que era significativa e sustentada ao longo do tempo [mediana CV pré-TARc=232000; mediana CV aos 3 meses=1066 ($p <0,001$); mediana CV aos 6 meses=156 ($p <0,001$); mediana CV 1 ano=827 ($p <0,001$); mediana CV 3 anos=76,5 ($p <0,001$); mediana CV aos 5 anos=50 ($p <0,001$); mediana CV aos 10 anos=20 ($p=0,002$)].

Refira-se, porém, que não houve uma diferença significativa da mediana das cargas víricas entre *follow-up's* adjacentes.

O atingimento da supressão virológica para cada *follow-up* está descrito na tabela II. Não foi encontrada uma correlação valorizável entre o valor da carga vírica inicial ou da percentagem de linfócitos T CD4+ na consulta *baseline* com o atingimento da supressão virológica nos *follow-up's* subsequentes.

Foi possível estabelecer uma correlação entre a idade e o atingimento de supressão virológica nos primeiros dois *follow-up's*, em que a média de idades para os doentes com supressão virológica no *follow-up* dos 3 meses era de 4,5 anos (*versus* 15,8 meses para os que não tinham supressão virológica; $p= 0,007$) e aos 6 meses a média era de 5 anos para os doentes com cargas víricas indetectáveis (*versus* 20 meses para mantinham carga vírica detectável; $p= 0,013$). O factor idade não teve influência (de forma estatisticamente significativa) na supressão virológica nos *follow-up's* posteriores.

Foi observado que, nos *follow-up's* mais precoces (3 meses e 6 meses), os doentes que se encontravam num estágio clínico mais avançado (categoria C) tinham uma frequência relativa inferior de supressão virológica quando comparados com aqueles que estavam em estádios mais precoces da doença (categorias N, A e B): 25% (doentes categoria C) *versus* 54,2% (doentes categorias N, A ou B) para o *follow-up* dos 3 meses;

33,3% (categoria C) *versus* 68,2% (categorias N,A ou B) para o *follow-up* dos 6 meses. Esta divergência esbate-se progressivamente, sendo pouco evidente nos *follow-up's* seguintes.

A ocorrência de intercorrências clínicas infecciosas mais graves (grau 3 ou 4) foi independente da presença (ou não) de supressão virológica em cada *follow-up*. Adicionalmente, também não foi possível associar a maior frequência de efeitos laterais aos doentes que haviam atingido a supressão virológica (em nenhum dos *follow-up's*).

Resposta imunológica à instituição da TARc

Dos 27 doentes com resultados da percentagem de linfócitos T CD4⁺ disponíveis na consulta *baseline* e no *follow-up* dos 3 meses, verificou-se um aumento significativo da mediana da percentagem de linfócitos T CD4⁺ entre estes dois tempos (25% para 31%) ($p=0,045$). O aumento da percentagem de linfócitos T CD4⁺ continuou a ser comprovado estatisticamente nos *follow-up's* dos 6 meses e de 1 ano, quando comparado com a percentagem de linfócitos T CD4⁺ inicial ($p=0,01$ e $p <0,001$, respectivamente).

Este padrão de evolução positivo também está demonstrado esquematicamente na figura 2, sendo de destacar na mesma o facto de nenhum doente ter apresentado valores inferiores ou iguais a 15% a partir do *follow-up* dos 3 anos (inclusivamente).

Quando avaliada a influência do *timing* da introdução da TARc na média da percentagem de linfócitos T CD4⁺ obtida em cada *follow-up*, foi observada uma associação estatisticamente significativa ($p=0,022$) para a sua instituição precoce (antes dos 12 meses) aos 6 meses de *follow-up* (média da percentagem de linfócitos T CD4⁺ aos 6 meses para o subgrupo de tratamento precoce: 41,1%; média da percentagem de linfócitos T CD4⁺ aos 6 meses para o subgrupo de tratamento tardio: 29,2%). Nos restantes *follow-up's* não foi encontrada uma diferença significativa entre os dois subgrupos descritos.

Foi obtida uma diferença significativa entre a média da percentagem de linfócitos T CD4⁺ entre os doentes classificados clinicamente como N, A ou B *versus* aqueles classificados como C na consulta *baseline* (média de percentagem de linfócitos T CD4⁺: 28,7% *versus* 1,9%, respectivamente; $p=0,004$) e no *follow-up* dos 3 meses (média de %CD4⁺: 30,5% *versus* 7,8%, respectivamente; $p=0,004$). Esta distinção não foi observada em qualquer um dos *follow-up's* subsequentes.

A ocorrência de intercorrências clínicas infecciosas mais graves (grau 3 ou 4) não teve correlação significativa com os valores da percentagem de linfócitos T CD4⁺ obtidos em cada *follow-up*.

Tabela II – Características clínicas, imunológicas e virológicas após instituição da terapêutica anti-retrovírica (TARc)

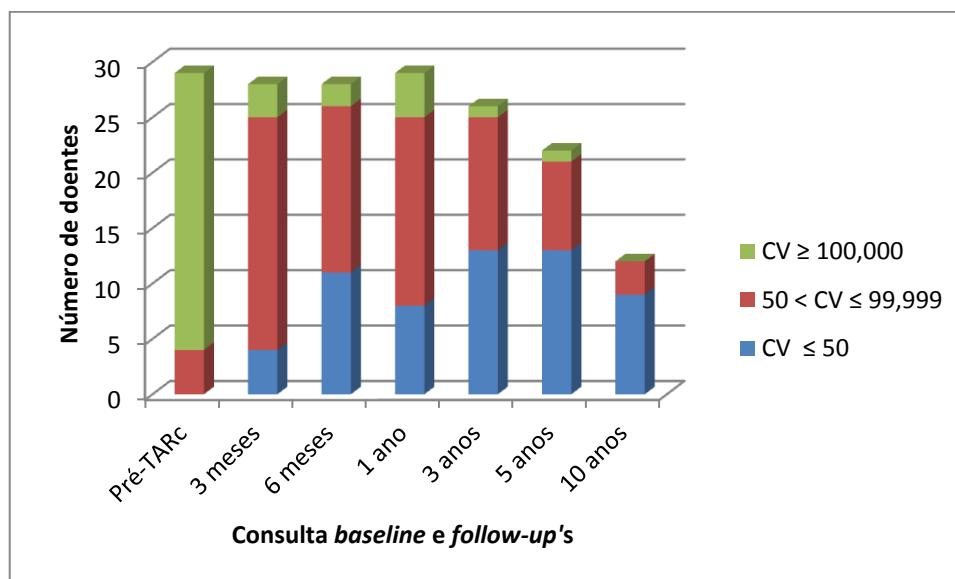
Datas dos <i>follow-up</i>'s						
	3 meses (n=30)	6 meses (n=30)	1 ano (n=29)	3 anos (n=26)	5 anos (n=22)	10 anos (n=12)
Estadiamento clínico (critérios CDC)						
N/A/B	25 (83,3%)	23 (76,7%)	22(75,9%)	19(73,1%)	17 (77,3%)	8 (66,7%)
C	5 (16,7%)	7 (23,3%)	7 (24,1%)	7 (26,9%)	5 (22,7%)	4 (33,3%)
Weight-for-age						
score z	-0,8 ^a (-1,8 a -0,4)	-1,1 ^c (-1,6 a 0,1)	-0,65 ^e (-2,0 a 0,5)	-0,19 ^g (-1 a 0,7)	0,19 ⁱ (-1,1 a 0,6)	-0,85 ^k (-1,6 a 0,2)
Height-for-age						
score z	-1,3 ^b (-2,4 a -0,4)	-1,5 ^d (-2,2 a -0,9)	-1,05 ^f (-1,9 a 0,4)	-0,6 ^h (-1,5 a 0,1)	-0,6 ^j (-1,3 a -0,1)	-0,4 ^l (-0,9 a 0,2)
Percentagem[*]						
células CD4⁺ (média±SD)	27,8% (±13,5)	33,47% (±12,67)	33,23% (±11,65)	34,57% (±8,85)	33,99% (±8,17)	38,59% (±8,66)
Supressão[§]						
virológica						
Sim	14 (46,7%)	17 (60,7%)	16(55,2%)	16(61,5%)	16 (72,7%)	10(83,3%)
Não	14 (46,7%)	11 (39,3)	13(44,8%)	10(38,5%)	6 (27,3%)	2 (16,7%)

Mortes durante os *follow-up*'s: 0 (0%)

Legenda: Os valores dos scores z para peso e comprimento/estatura ajustados à idade e género foram expressos em mediana e intervalos inter-quartis [(IQR); Q1=25%; Q3=75%]; Um score z de 0 é equivalente ao percentil 50 de peso ou comprimento/estatura correspondentes a essa faixa etária e género.

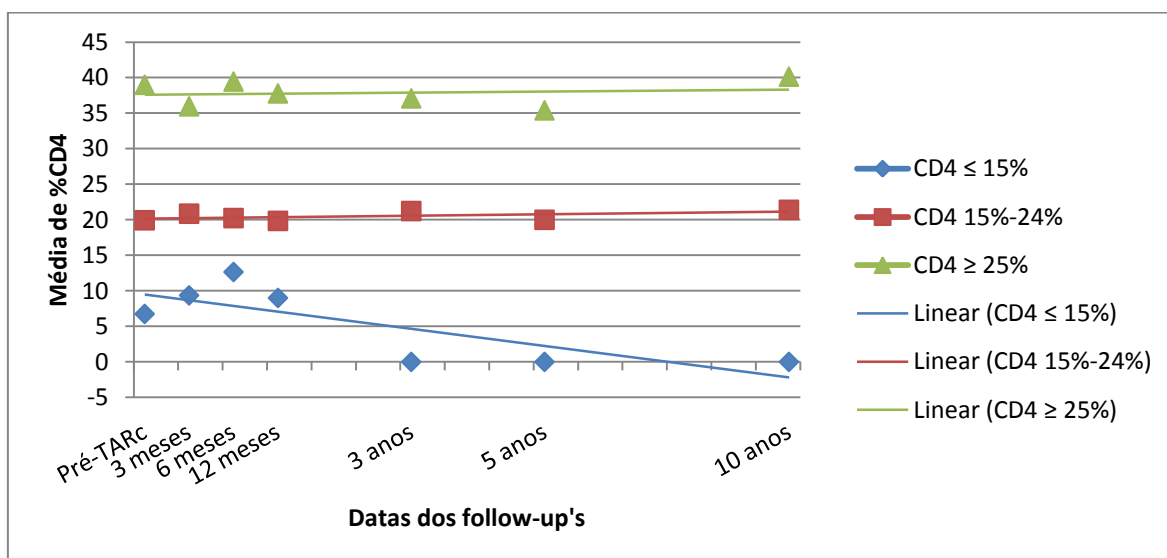
Notas: ^a – n=27; ^b –n= 26; ^c - n=28; ^d - n=26; ^e –n=28; ^f – n= 26; ^g –n=22; ^h –n=21; ⁱ –n= 21; ^j –n=18; ^k–n= 11; ^l – n=10. ^{*} - Percentagem linfócitos T CD4⁺: n=27 para *follow-up* 3 meses; n= 25 para *follow-up* 6 meses; n=26 para *follow-up* 1 ano; n=24 para *follow-up* 3 anos; n=19 para *follow-up* 5 anos. [§] - Avaliação da supressão virológica: n=28 para *follow-up* 3 meses; n=28 para *follow-up* 6 mese

Figura 1 – Evolução da carga vírica pré e pós introdução da TARc



Legenda - A carga vírica (CV) foi classificada em 3 categorias: inferior ou igual a 50 cópias/mL (a azul); entre 50 e 99,999 cópias/mL (a vermelho) e igual ou superior a 100,000 cópias/mL (a verde). Em cada coluna está expressa a frequência relativa de doentes com carga vírica nas classes referidas, quer no momento prévio à introdução da terapêutica anti-retrovírica (TARc) como nos *follow-up's* subsequentes.

Figura 2 – Evolução da percentagem de linfócitos T CD4⁺ pré e pós introdução da TARc



Legenda: As percentagens de linfócitos T CD4⁺ foram estratificadas em 3 classes (≤15%; 15-24%; ≥24%). Em cada consulta (*baseline* e *follow-up's*) foi obtida a média para cada uma das classes referidas, estando esse valor representado pelos pontos demarcados no gráfico. Foram aplicadas linhas de tendência linear ao gráfico para auxiliar na visualização do padrão evolutivo da percentagem de linfócitos T CD4⁺ ao longo do tempo.

Notas: n=30 para pré-TARc ; n=27 para *follow-up* 3 meses; n= 25 para *follow-up* 6 meses; n=26 para *follow-up* 1 ano; n=24 para *follow-up* 3 anos; n=19 para *follow-up* 5 anos; n=12 para *follow-up* 10 anos

Tabela III – Características clínicas, imunológicas e virológicas no último *follow-up*

	Média (\pm SD) ou Frequência (%) (n=30)
Idade (em anos)	9 (\pm 4)
Percentagem linfócitos T CD4⁺	34,77(\pm 10)
Carga vírica (cópias/mL)	
≤ 50	20 (66,7%)
50-999	5 (16,7%)
1000-99,999	5 (16,7%)
≥ 100,000	0 (0%)
Estadiamento clínico (critérios CDC)	
Categoria N	7 (23,3%)
Categoria A	9 (30,0%)
Categoria B	7 (23,3%)
Categoria C	7 (23,3%)

Avaliação dos esquemas de terapêutica anti-retrovírica combinada, mudanças de esquemas e efeitos laterais associados

A tabela IV contém os principais dados encontrados para cada regime terapêutico instituído (T), por ordem da sua introdução. As interrupções da TARc não foram incluídas na tabela. Durante o período de *follow-up* deste estudo, foi obtido um registo máximo de 6 mudanças de esquemas terapêuticos. A tabela V contém um resumo dos efeitos laterais encontrados ao longo dos *follow-up*'s. Foi verificada a ocorrência de efeitos laterais (em algum momento do *follow-up*) em 25 dos 30 doentes avaliados (83,3%).

De notar que foi observada uma relação estatisticamente significativa entre a instituição precoce da TARc combinada e a ocorrência de 3 ou mais mudanças de esquema terapêutico ($p=0,035$).

Particularidades do esquema inicial (Tx1)

A idade média de início do tratamento foi de 2,9 (\pm 0,8) meses para o subgrupo com diagnóstico precoce e de 4,1 (\pm 4) anos para o subgrupo com diagnóstico tardio.

A duração média do esquema de primeira linha foi de 3,2 (\pm 1,8) anos (mínimo: 7 meses; máximo: 5 anos) para os doentes que se mantiveram sempre com este esquema,

enquanto a duração média do tratamento inicial foi de 22 ($\pm 23,2$) meses (mínimo: 1 mês; máximo 7,5 anos) para aqueles que posteriormente necessitaram de uma terapêutica de 2ª linha.

Será importante referir que 14 dos 30 doentes (47%) a quem foi instituída a TARc permaneceram, sem interrupções, com o mesmo esquema inicial durante o tempo de *follow-up* incluído neste estudo.

Esquemas utilizados e adesão à TARc inicial

O esquema mais utilizado como regime inicial foi a combinação de 2 NITR com 1 IP, constituindo essa a escolha em 23 (76,7%) dos 30 doentes da amostra,

As combinações Lopinavir/Ritonavir + Lamivudina + Zidovudina e Nelfinavir + Lamivudina + Zidovudina foram as mais comuns (26,7% de frequência para cada uma das combinações).

A adesão satisfatória à terapêutica instituída foi observada em mais de metade dos doentes (73,3%), sendo que a idade média do grupo com boa adesão foi de 3 ($\pm 4,3$) anos e a idade média no grupo com má adesão foi de 18 ($\pm 18,4$) meses. Não foi, no entanto, possível verificar uma associação estatisticamente significativa entre a idade de início de tratamento mais precoce (inferior a 12 meses) com uma pior adesão à terapêutica. Também não houve também diferenças valorizáveis na adesão à terapêutica consoante o esquema terapêutico utilizado.

Tabela IV – Características das alterações dos esquemas terapêuticos

	Tx1 (n=30)	Tx2 (n=14)	Tx3 (n=13)	Tx4 (n=7)	Tx5 (n=4)	Tx6 (n=4)
Regimes utilizados^a						
2NITR+1NNITR	6 (20%)	5 (35,7%)	1 (9,1%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
2NITR+1IP	23(76,7%)	8 (57,1%)	7 (63,6%)	5 (71,4%)	0 (0%)	0 (0%)
Outros ^b	1 (3,3%)	1 (7,14%)	3 (27,3%)	2 (28,6%)	4(100%)	4(100%)
Motivo da mudança						
Falência virológica		8(57,1%)	6 (54,4%)	6 (85,7%)	4(100%)	2 (50%)
Falência imunológica		0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Falência clínica		1 (7,1%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Toxicidade/Intolerância		4 (28,6%)	1 (9,1%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (50%)
Outros ^c		1 (7,1%)	4 (36,4%)	1(14,3%)	0 (0%)	0 (0%)
Resistências detectadas <i>de novo</i>						
Sim	5 (27,8%)	8 (88,9%)	5 (83,3%)	4 (100%)	4(100%)	2(100%)
Não	13(72,2%)	1 (11,1%)	1 (16,7%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Adesão terapêutica						
Boa	22(73,3%)	10 (71,4%)	8 (66,7%)	5 (71,4%)	1 (25%)	2 (50%)
Má	8 (26,7%)	4 (28,6%)	4 (33,3%)	2 (28,6%)	3 (75%)	2 (50%)
Efeitos laterais						
Sim	22(73,3%)	11 (68,8%)	5 (41,7%)	4 (57,1%)	2 (50%)	3 (75%)
Não	8 (26,7%)	5 (31,3%)	7 (58,3%)	3 (42,9%)	2 (50%)	1 (25%)
Duração total regime						
Média (anos) (\pm SD) ^d	2,5 (\pm 2)	2(\pm 1,8)	3(\pm 2,2)	3(\pm 2,4)	3(\pm 2,4)	1(\pm 0,8)

Legenda: O regime terapêutico inicial corresponde a Tx1, estando os restantes esquemas ordenados por ordem (Tx2 – terapêutica de segunda linha; Tx3 – terapêutica de 3ª linha e assim sucessivamente). Não foram incluídos na tabela os doentes que interromperam inadvertidamente a terapêutica.

Notas: ^a – NITR – análogos nucleósidos/nucleótidos inibidores da transcriptase reversa; NNITR – análogos não nucleósidos inibidores da transcriptase reversa; IP – inibidores da protease. ^b – Não foi incluído o caso de simplificação de esquema para determinação das frequências relativas de cada esquema terapêutico. ^c – Na categoria “Outros” das causas de mudança do tratamento foram incluídas: alterações das *guidelines* terapêuticas; simplificação de esquemas e remoção comercial do nelfinavir. ^d – SD: Desvio-padrão

Tabela V – Frequência de efeitos laterais em cada esquema de TARc

	Frequência						Total
	Tx1	Tx2	Tx3	Tx4	Tx5	Tx6	
Alterações do perfil lipídico	19	9	3	2	1	1	35
Lipoatrofia/ Lipodistrofia	2	0	1	0	0	3	6
Intolerância gastrointestinal	6	3	1	2	1	0	13
Rash cutâneo	1	1	0	0	0	0	2
Disfunção renal	1	0	0	0	0	0	1

Legenda: A frequência diz respeito ao número de ocorrências de um determinado efeito lateral notificadas/detectadas em cada esquema de TARc. O total corresponde à frequência global de cada efeito lateral após avaliação de todos os *follow-up's*.

Nota: Cada doente pode ter tido 1 ou mais efeitos laterais registados durante o curso da terapêutica. Os casos de *rash* cutâneo foram secundários ao uso de NNITR's e resolveram espontaneamente; a disfunção renal também foi apenas transitória.

DISCUSSÃO

O equilíbrio entre o controlo sustentado da infecção VIH pediátrica e a prevenção de efeitos indesejáveis relacionados com um regime de TARc crónico constitui um dos principais desafios na gestão desta patologia. Embora sejam já conhecidos os benefícios da TARc em termos de prevenção da progressão da infecção VIH, subsistem dúvidas se uma iniciação terapêutica agressiva e precoce - com vantagens sobre o domínio da infecção - supera os riscos associados a médio e longo prazo, como o desenvolvimento de multirresistências e conseqüente limitação terapêutica futura; efeitos laterais adversos e cumulativos e o desafio de garantir uma boa adesão ao tratamento de forma vitalícia.

O presente trabalho procurou averiguar se a introdução da TARc tinha repercussões efectivas nos parâmetros clínicos, imunológicos e virológicos numa população de doentes pediátricos e se esses resultados se mantinham ao longo de todo o *follow-up*.

A frequência de profilaxia materna e neonatal da transmissão mãe-filho da infecção VIH no nosso estudo foi inferior àquela descrita no estudo mais recente da TMF em Portugal (27), o que pode ser justificado pelo facto de um determinado número de casos ter ocorrido antes da implementação efectiva do programa de prevenção; desconhecimento do estado de seropositividade materna; gestações não vigiadas e proveniência de países em vias de desenvolvimento (nomeadamente os países africanos de língua portuguesa) onde estes protocolos não estão ainda a ser aplicados. Apesar de reconhecermos que existe uma relação entre o uso de fármacos anti-retrovíricos durante a gestação/período perinatal e o grau de resposta à terapêutica instituída posteriormente (28), considerámos que o número de crianças submetidas a esses efeitos era demasiado pequeno para obter validade estatística, pelo que este não foi considerado na nossa avaliação.

A carga vírica e percentagem de linfócitos CD4⁺ iniciais não foram influenciadas, neste estudo, pela idade e *timing* do diagnóstico, embora fosse expectável encontrar valores mais elevados de viremia (mas também de linfócitos CD4⁺) nas crianças mais jovens (29, 30); julgamos que esta discrepância se deve a limitações relacionadas com o tamanho reduzido da nossa amostra.

O padrão de evolução clínica dos doentes avaliados foi, na sua generalidade, sugestivo de que a TARc influencia favoravelmente o curso da doença: não houve registo de mortes durante todo o *follow-up* e apenas 2 doentes progrediram para SIDA. Será relevante mencionar que em ambos os casos, os factores socioeconómicos e culturais desfavoráveis motivaram a interrupção da TARc, contribuindo assim de forma para este desfecho. A idade em que ocorreu a progressão (antes dos 12 meses nos 2 casos) também desempenhou um papel nesta mudança, uma vez que nesta fase a imaturidade

imunológica e viremia elevada (31) associam-se ao desenvolvimento de sintomatologia mais grave.

O crescimento estatura-ponderal, quando inadequado, é considerado um indicador sensível e independente de risco de progressão clínica (maior probabilidade de infecções oportunistas) e mortalidade associada ao VIH (32-34). A recuperação mais lenta ou sub-ótima do crescimento tem sido consistentemente associada a valores elevados de carga vírica e uma apresentação inaugural da infecção com sintomatologia mais avançada (34). Por contraposição, a recuperação imunológica e a capacidade de supressão virológica são apontados como marcadores de bom prognóstico no ganho ponderal (e, em menor grau, do comprimento/estatura esperado para a idade) (35). A TARc tem sido associada a recuperações dos *scores* de peso/comprimento/estatura; velocidade de crescimento; ganho de massa muscular e apetite (36, 37).

No estudo desta amostra, foi possível encontrar resultados que estão em linha com o que foi anteriormente descrito: os doentes com sintomatologia clínica inicial mais avançada (categoria C) apresentaram um *score* para o peso mais baixo na consulta *baseline* e essa tendência manteve-se durante a maior parte dos *follow-up's*. Mesmo com esta distinção, verificou-se, no geral, uma recuperação favorável dos indicadores de crescimento ao longo do tempo de observação, podendo inferir-se que a TARc desempenhou um papel activo na melhoria destes parâmetros.

A frequência de intercorrências clínicas infecciosas graves ou potencialmente fatais foi relativamente baixa durante os *follow-up's*. Embora pudesse ser expectável a associação entre a ocorrência de episódios infecciosos mais graves com um estadiamento clínico mais avançado, tal não foi demonstrado nos resultados obtidos; pelo contrário, as crianças nessa categoria (C) também tiveram uma evolução clínica favorável, o que poderá estar relacionado com o efeito da TARc. Conseguimos, porém, encontrar uma redução estatisticamente significativa da sua ocorrência após 1 ano de TARc, o que poderá significar que a terapêutica diminui os eventos geradores de morbilidade associada à infecção VIH.

Em termos de avaliação da evolução da carga vírica nesta amostra, poderá começar por evidenciar-se os valores elevados de viremia detectados na fase inicial (pré-TARc) da observação, de acordo com o que está descrito na literatura. A carga vírica constitui um factor independente de prognóstico para progressão clínica adversa e o padrão particular de evolução da mesma na população pediátrica constitui um dos principais motivos para a necessidade de instituição precoce de tratamento neste grupo de doentes (38). A exposição a esta viremia elevada, particularmente nas crianças com menos de 12 meses, pode levar não só ao desenvolvimento de sintomatologia grave como impedir o atingimento de supressão virológica a longo prazo, dada a possibilidade de se

constituírem reservatórios de células infectadas que se tornam dificilmente acessíveis a *posteriori* pela terapêutica (30). Esta relação entre valores elevados de carga vírica e estadiamento clínico foi descrita na nossa amostra, em que pudemos observar que as crianças com sintomatologia mais grave (categoria C) tiveram uma frequência relativa inferior de supressão virológica nos primeiros meses que se seguiram ao início da terapêutica, podendo isto sugerir a interacção deletéria da carga vírica no sistema imunitário.

O efeito da introdução da TARc na redução da viremia foi comprovado no nosso estudo, com diminuições estatisticamente significativas da carga vírica (quando comparadas com a consulta *baseline*) em cada *follow-up*. A supressão virológica foi também a regra, com mais de metade dos doentes com cargas víricas indetectáveis em todos os *follow-up*'s. Houve uma diferença valorizável entre o atingimento da supressão virológica e a idade das crianças nos primeiros 2 *follow-up*'s, com maior capacidade de resposta das crianças com idade mais avançada. Os motivos que suportam este achado são multifactoriais e incluem: cargas víricas mais elevadas em idades secundárias a uma imaturidade imunológica e um maior número de células T CD4⁺ alvo; estirpes de vírus resistentes adquiridas por transmissão materna; uma maior duração do período entre a introdução da TARc e o efeito esperado e finalmente, maiores dificuldades na adesão à terapêutica nesta faixa etária (30).

Relativamente à avaliação imunológica, os indícios de recuperação imunológica foram visíveis logo após 3 meses de terapêutica, com uma subida de 6 pontos percentuais na percentagem de linfócitos T CD4⁺ relativamente ao seu valor pré-TARc (25% para 31%; $p=0,045$).

A introdução do tratamento antes dos 12 meses demonstrou ter resultados superiores a um tratamento de início mais tardio, reflectido pela diferença nos ganhos relativos de linfócitos T CD4⁺ entre os dois grupos, sobretudo nos primeiros meses após o início do tratamento. Estes resultados são compatíveis com aqueles encontrados em ensaios clínicos pediátricos de maiores dimensões (39, 40) e que sugerem como possíveis razões para esta diferença a diminuição da actividade tímica com o aumento da idade e a exposição mais prolongada no tempo das crianças mais velhas à infecção, com possíveis danos permanentes ao seu sistema imunitário e consequente limitação na sua capacidade de recuperação a este nível.

Houve também possibilidade de verificar que as crianças com infecção VIH mais avançada logo à partida (categoria C) tiveram uma recuperação dos linfócitos T CD4⁺ mais lenta e inferior (em termos de valores absolutos) quando as comparámos com as crianças em estádios N, A ou B, podendo esta constatação reflectir o impacto negativo da infecção não controlada na capacidade de resposta a este nível.

Os nossos achados vão no sentido de sustentar a ideia de que a terapêutica precoce é mais eficaz na capacidade de gerar uma resposta imunológica apropriada (41). O aumento da percentagem de T CD4+ foi apenas estatisticamente significativo até ao *follow-up* dos 12 meses. Não obstante, o facto de todos os doentes observados, inclusivamente aqueles que atingiram o *follow-up* dos 10 anos, ter conseguido atingir uma percentagem de linfócitos T CD4+ igual ou superior a 25% levam-nos a colocar a hipótese de que estes valores se relacionam com a TARc.

A apreciação das particularidades da terapêutica anti-retrovírica aplicada à nossa amostra acabou por ser predominantemente descritiva, por limitações inerentes ao tamanho reduzido da amostra.

Os esquemas terapêuticos utilizados (1 IP ou NNRTI com 2 NITR's como TARc inicial em mais de 75% dos doentes) estão de acordo com as orientações de tratamento (5, 8, 42).

Apesar da dificuldade em garantir uma boa adesão a longo curso de crianças maioritariamente assintomáticas, destacamos o facto de que quase metade dos doentes da nossa amostra (47%) conseguiu manter o esquema inicial durante todo o *follow-up*.

A instituição precoce da TARc (inferior a 6 meses de idade) foi associada à ocorrência de 3 ou mais mudanças de esquema ($p=0,035$), ilustrando essa dificuldade.

Até à data de realização deste estudo, existiam já 4 doentes a realizar o sexto esquema de TARc, o que comporta uma preocupação no que diz respeito ao espectro de opções terapêuticas disponíveis no futuro. A gestão clínica destes doentes é potencialmente complicada pelo desenvolvimento de padrões de resistência virológica progressivamente mais complexos bem como pelo facto de existirem menos fármacos anti-retrovíricos de gerações mais recentes autorizados para uso pediátrico.

A falência virológica e a toxicidade/intolerância à terapêutica foram as causas mais comuns as mudanças de TARc na nossa amostra. Nos casos de toxicidade, não houve diferenças estatisticamente significativas entre as principais classes de fármacos mas não podemos garantir que tal não tenha sido justificado pelo número reduzido de doentes em cada uma das combinações farmacológicas possíveis.

A adesão à terapêutica foi considerada boa na maioria dos doentes em cada um dos *follow-up's*, não tendo sido possível correlacionar o grau de adesão com o atingimento de supressão virológica ou com o número de mudanças de regime terapêutico. Este é um parâmetro de difícil valorização no modelo de estudo que aplicámos, em parte pela dificuldade em obter informação objectiva sobre a adesão, não podendo ignorar-se a possibilidade de sobrevalorização da mesma quando a sua inquirição foi feita directamente ao doente e/ou aos seus cuidadores. Por outro lado, existem múltiplos

factores de natureza psicossocial que influenciam a adesão à TARc, sendo que estes não foram considerados durante a nossa avaliação (43).

Relativamente aos efeitos laterais associados à TARc, tem sido sugerida uma associação entre o uso de NITR's (sobretudo os de gerações mais antigas) e o desenvolvimento de toxicidade mitocondrial (com possível desenvolvimento de miopatia; neuropatia periférica; acidose láctica e lipoatrofia) (44) enquanto os IP's parecem contribuir para o desenvolvimento de hiperlipidemia, hiperglicemia/resistência à insulina e lipodistrofia (45). Notavelmente, estas alterações também podem ser secundárias à própria infecção pelo VIH nestes sistemas, o que dificulta a determinação da contribuição de cada uma das partes na etiologia dos distúrbios acima referidos. Não obstante, o seu desenvolvimento começa agora a ser apontado como factor de risco para aterosclerose prematura, não sendo ainda conhecido o impacto destes achados no risco cardiovascular futuro das crianças e adolescentes sob tratamento crónico com TARc (18).

As alterações do perfil lipídico, a intolerância gastrointestinal (náuseas/vómitos), e a lipoatrofia/lipodistrofia foram os efeitos laterais mais frequentes na nossa amostra.

O acompanhamento das queixas gastrointestinais nas crianças deve ser cuidadosa e contínua porque poderá facilmente causar falta de adesão ao tratamento e levar à falência virológica. Não podemos garantir que a frequência de alterações do perfil lipídico obtida na nossa amostra seja exclusivamente secundária à TARc, uma vez que existem factores confundidores como hábitos alimentares e exercício físico que não foram considerados na avaliação.

Não houve uma relação estatisticamente significativa entre o tipo de fármacos anti-retrovíricos utilizados e a natureza dos efeitos laterais encontrados.

O facto de este estudo ter sido realizado de forma retrospectiva comporta um risco de imprecisão que é inerente à natureza do estudo e o número reduzido da amostra poderá ter impedido a obtenção de outros resultados estatisticamente significativos. No sentido de ultrapassar estas limitações, pensamos que seria interessante desenvolver um estudo prospectivo em parceria com outros centros nacionais e em que sugerimos a utilização dos *scores z* da percentagem e contagem absoluta de linfócitos T CD4⁺, uma vez que estes permitiriam reduzir a influência da idade nestes parâmetros e, por conseguinte, poderiam auxiliar na avaliação mais detalhada a nível imunológico deste tipo de doentes.

AGRADECIMENTOS

À Dr.^a Laura Marques, minha orientadora, pela generosidade com que partilhou comigo o seu conhecimento nesta área e pelo apoio permanente na execução deste trabalho.

À Dr.^a Carolina Lemos, pela disponibilidade constante em auxiliar-me na análise estatística.

Aos meus pais, o meu eterno agradecimento, as minhas conquistas só foram possíveis com a vossa ajuda.

Aos meus futuros colegas médicos e amigos de longa data, Catarina Antunes, Inês Trigo, Isabel Marques e Tiago Guedes, sem o vosso apoio este trabalho não se teria concretizado.

REFERÊNCIAS

1. Harris NS, Fowler MG, Sansom SL, Ruffo N, Lampe MA. Use of enhanced perinatal human immunodeficiency virus surveillance methods to assess antiretroviral use and perinatal human immunodeficiency virus transmission in the United States, 1999-2001. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2007 9//;197(3, Supplement):S33-S41.
2. Cooper ER, Charurat M, Mofenson L, Hanson IC, Pitt J, Diaz C, et al. Combination antiretroviral strategies for the treatment of pregnant HIV-1-infected women and prevention of perinatal HIV-1 transmission. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*. 2002 Apr 15;29(5):484-94. PubMed PMID: 11981365. Epub 2002/05/01. eng.
3. Nahmias AJ, Clark WS, Kourtis AP, Lee FK, Cotsonis G, Ibegbu C, et al. Thymic dysfunction and time of infection predict mortality in human immunodeficiency virus-infected infants. CDC Perinatal AIDS Collaborative Transmission Study Group. *The Journal of infectious diseases*. 1998 Sep;178(3):680-5. PubMed PMID: 9728535. Epub 1998/09/05. eng.
4. Chakraborty R. HIV-1 infection in children: a clinical and immunologic overview. *Current HIV research*. 2005 Jan;3(1):31-41. PubMed PMID: 15638721. Epub 2005/01/11. eng.
5. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection <http://aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/lvguidelines/PediatricGuidelines.pdf>: AIDSinfo; 2011 [updated 11-05-2012; cited 2013 1-5-2013]. Available from: <http://aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/lvguidelines/PediatricGuidelines.pdf>.
6. Blanche S, Tardieu M, Duliege A, Rouzioux C, Le Deist F, Fukunaga K, et al. Longitudinal study of 94 symptomatic infants with perinatally acquired human immunodeficiency virus infection. Evidence for a bimodal expression of clinical and biological symptoms. *American journal of diseases of children (1960)*. 1990 Nov;144(11):1210-5. PubMed PMID: 1978551. Epub 1990/11/01. eng.
7. Goulder PJ, Jeena P, Tudor-Williams G, Burchett S. Paediatric HIV infection: correlates of protective immunity and global perspectives in prevention and management. *British medical bulletin*. 2001;58:89-108. PubMed PMID: 11714626. Epub 2001/11/21. eng.
8. Diniz A. Recomendações Portuguesas para o tratamento da infeção por VIH-1 e VIH-2 www.aidsportugal.pt2012 [updated 2012; cited 2013]. Available from: http://www.aidsportugal.com/Modules/WebC_Docs/GetDocument.aspx?DocumentId=2828.
9. Dunn D, Woodburn P, Duong T, Peto J, Phillips A, Gibb D, et al. Current CD4 cell count and the short-term risk of AIDS and death before the availability of effective antiretroviral therapy in HIV-infected children and adults. *The Journal of infectious diseases*. 2008 Feb 1;197(3):398-404. PubMed PMID: 18248303. Epub 2008/02/06. eng.
10. Ometto L, De Forni D, Patiri F, Trouplin V, Mammano F, Giacomet V, et al. Immune reconstitution in HIV-1-infected children on antiretroviral therapy: role of thymic output and viral fitness. *AIDS (London, England)*. 2002 Apr 12;16(6):839-49. PubMed PMID: 11919485. Epub 2002/03/29. eng.
11. Giaquinto C, Penazzato M, Rosso R, Bernardi S, Rampon O, Nasta P, et al. Italian consensus statement on paediatric HIV infection. *Infection*. 2010 Aug;38(4):301-19. PubMed PMID: 20514509. Epub 2010/06/02. eng.
12. Brichard B, Van der Linden D. Clinical practice treatment of HIV infection in children. *European journal of pediatrics*. 2009 Apr;168(4):387-92. PubMed PMID: 19152000. Epub 2009/01/20. eng.
13. Chiappini E, Galli L, Gabiano C, Tovo PA, de Martino M. Early triple therapy vs mono or dual therapy for children with perinatal HIV infection. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2006 Feb 8;295(6):626-8. PubMed PMID: 16467231. Epub 2006/02/10. eng.
14. de Martino M, Tovo PA, Balducci M, Galli L, Gabiano C, Rezza G, et al. Reduction in mortality with availability of antiretroviral therapy for children with perinatal HIV-1 infection. Italian Register for HIV Infection in Children and the Italian National AIDS Registry. *JAMA : the*

- journal of the American Medical Association. 2000 Jul 12;284(2):190-7. PubMed PMID: 10889592. Epub 2000/07/13. eng.
15. Gortmaker SL, Hughes M, Cervia J, Brady M, Johnson GM, Seage GR, 3rd, et al. Effect of combination therapy including protease inhibitors on mortality among children and adolescents infected with HIV-1. *The New England journal of medicine*. 2001 Nov 22;345(21):1522-8. PubMed PMID: 11794218. Epub 2002/01/17. eng.
 16. Prendergast A, Tudor-Williams G, Jeena P, Burchett S, Goulder P. International perspectives, progress, and future challenges of paediatric HIV infection. *Lancet*. 2007 Jul 7;370(9581):68-80. PubMed PMID: 17617274. Epub 2007/07/10. eng.
 17. Dimock D, Thomas V, Cushing A, Purdy JB, Worrell C, Kopp JB, et al. Longitudinal assessment of metabolic abnormalities in adolescents and young adults with HIV-infection acquired perinatally or in early childhood. *Metabolism: clinical and experimental*. 2011 Jun;60(6):874-80. PubMed PMID: 20947103. Pubmed Central PMCID: PMC3021796. Epub 2010/10/16. eng.
 18. Sims A, Hadigan C. Cardiovascular complications in children with HIV infection. *Current HIV/AIDS reports*. 2011 Sep;8(3):209-14. PubMed PMID: 21643782. Epub 2011/06/07. eng.
 19. de Mulder M, Yebra G, Navas A, de Jose MI, Gurbindo MD, Gonzalez-Tome MI, et al. High drug resistance prevalence among vertically HIV-infected patients transferred from pediatric care to adult units in Spain. *PloS one*. 2012;7(12):e52155. PubMed PMID: 23284913. Pubmed Central PMCID: PMC3524105. Epub 2013/01/04. eng.
 20. (CDC) CfDCaP. 1994 revised classification system for human immunodeficiency virus infection in children less than 13 years of age. *MMWR*. 1994 (43):1-10.
 21. Prevention CfDCa. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 1993 (41):1-19.
 22. Info A. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. AIDS Info website. 2010.
 23. Center RC. Division of AIDS. Table for grading the severity of adult and pediatric adverse events. 2006.
 24. Kuczmarski RJ, Ogden CL, Grummer-Strawn LM, Flegal KM, Guo SS, Wei R, et al. CDC growth charts: United States. *Advance data*. 2000 Jun 8(314):1-27. PubMed PMID: 11183293. Epub 2001/02/24. eng.
 25. Dibley MJ, Staehling N, Nieburg P, Trowbridge FL. Interpretation of Z-score anthropometric indicators derived from the international growth reference. *The American journal of clinical nutrition*. 1987;46(5):749-62.
 26. Castro KG, Ward JW, Slutsker L, Buehler JW, Jaffe HW, Berkelman RL, et al. 1993 revised classification system for HIV infection and expanded surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults. *Clinical Infectious Diseases*. 1993;17(4):802-10.
 27. Pádua E, Almeida C, Água-Doce I, Nunes B, Martins HC. Evolução de casos de transmissão VIH da mãe ao filho em Portugal. 2013.
 28. Persaud D, Palumbo P, Ziemniak C, Chen J, Ray SC, Hughes M, et al. Early archiving and predominance of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-resistant HIV-1 among recently infected infants born in the United States. *The Journal of infectious diseases*. 2007 May 15;195(10):1402-10. PubMed PMID: 17436219. Epub 2007/04/17. eng.
 29. Lewis J, Walker AS, Castro H, De Rossi A, Gibb DM, Giaquinto C, et al. Age and CD4 count at initiation of antiretroviral therapy in HIV-infected children: effects on long-term T-cell reconstitution. *The Journal of infectious diseases*. 2012 Feb 15;205(4):548-56. PubMed PMID: 22205102. Epub 2011/12/30. eng.
 30. Abrams EJ, Weedon J, Steketee RW, Lambert G, Bamji M, Brown T, et al. Association of human immunodeficiency virus (HIV) load early in life with disease progression among HIV-infected infants. New York City Perinatal HIV Transmission Collaborative Study Group. *The Journal of infectious diseases*. 1998 Jul;178(1):101-8. PubMed PMID: 9652428. Epub 1998/07/04. eng.

31. Gray L, Newell ML, Thorne C, Peckham C, Levy J. Fluctuations in symptoms in human immunodeficiency virus-infected children: the first 10 years of life. *Pediatrics*. 2001 Jul;108(1):116-22. PubMed PMID: 11433063. Epub 2001/07/04. eng.
32. Berhane R, Bagenda D, Marum L, Aceng E, Ndugwa C, Bosch RJ, et al. Growth failure as a prognostic indicator of mortality in pediatric HIV infection. *Pediatrics*. 1997 Jul;100(1):E7. PubMed PMID: 9200381. Epub 1997/07/01. eng.
33. Chantry CJ, Byrd RS, Englund JA, Baker CJ, McKinney RE, Jr. Growth, survival and viral load in symptomatic childhood human immunodeficiency virus infection. *The Pediatric infectious disease journal*. 2003 Dec;22(12):1033-9. PubMed PMID: 14688560. Epub 2003/12/23. eng.
34. Musoke PM, Mudiope P, Barlow-Mosha LN, Ajuna P, Bagenda D, Mubiru MM, et al. Growth, immune and viral responses in HIV infected African children receiving highly active antiretroviral therapy: a prospective cohort study. *BMC pediatrics*. 2010;10:56. PubMed PMID: 20691045. Pubmed Central PMCID: PMC2923128. Epub 2010/08/10. eng.
35. Verweel G, van Rossum AM, Hartwig NG, Wolfs TF, Scherpbier HJ, de Groot R. Treatment with highly active antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus type 1-infected children is associated with a sustained effect on growth. *Pediatrics*. 2002 Feb;109(2):E25. PubMed PMID: 11826235. Epub 2002/02/05. eng.
36. Miller TL, Mawn BE, Orav EJ, Wilk D, Weinberg GA, Nicchitta J, et al. The effect of protease inhibitor therapy on growth and body composition in human immunodeficiency virus type 1-infected children. *Pediatrics*. 2001 May;107(5):E77. PubMed PMID: 11331727. Epub 2001/05/23. eng.
37. Fiore P, Donelli E, Boni S, Pontali E, Tramalloni R, Bassetti D. Nutritional status changes in HIV-infected children receiving combined antiretroviral therapy including protease inhibitors. *International journal of antimicrobial agents*. 2000 Nov;16(3):365-9. PubMed PMID: 11091066. Epub 2000/11/25. eng.
38. Shearer WT, Quinn TC, LaRussa P, Lew JF, Mofenson L, Almy S, et al. Viral load and disease progression in infants infected with human immunodeficiency virus type 1. Women and Infants Transmission Study Group. *The New England journal of medicine*. 1997 May 8;336(19):1337-42. PubMed PMID: 9134873. Epub 1997/05/08. eng.
39. Van Dyke RB, Patel K, Siberry GK, Burchett SK, Spector SA, Chernoff MC, et al. Antiretroviral treatment of US children with perinatally acquired HIV infection: temporal changes in therapy between 1991 and 2009 and predictors of immunologic and virologic outcomes. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*. 2011 Jun 1;57(2):165-73. PubMed PMID: 21407086. Pubmed Central PMCID: PMC3125481. Epub 2011/03/17. eng.
40. Patel K, Hernan MA, Williams PL, Seeger JD, McIntosh K, Dyke RB, et al. Long-term effects of highly active antiretroviral therapy on CD4+ cell evolution among children and adolescents infected with HIV: 5 years and counting. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2008 Jun 1;46(11):1751-60. PubMed PMID: 18426371. Pubmed Central PMCID: PMC3154876. Epub 2008/04/23. eng.
41. Judd A. Early antiretroviral therapy in HIV-1-infected infants, 1996-2008: treatment response and duration of first-line regimens. *AIDS (London, England)*. 2011 Nov 28;25(18):2279-87. PubMed PMID: 21971357. Pubmed Central PMCID: PMC3433031. Epub 2011/10/06. eng.
42. First-line antiretroviral therapy with a protease inhibitor versus non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor and switch at higher versus low viral load in HIV-infected children: an open-label, randomised phase 2/3 trial. *The Lancet Infectious Diseases*. 2011 4//;11(4):273-83.
43. Van Dyke RB, Lee S, Johnson GM, Wiznia A, Mohan K, Stanley K, et al. Reported adherence as a determinant of response to highly active antiretroviral therapy in children who have human immunodeficiency virus infection. *Pediatrics*. 2002 Apr;109(4):e61. PubMed PMID: 11927734. Epub 2002/04/03. eng.
44. Hulan T, Gerschenson M. HIV and mitochondria: more than just drug toxicity. *The Journal of infectious diseases*. 2012 Jun 15;205(12):1769-71. PubMed PMID: 22476715. Pubmed Central PMCID: PMC3357135. Epub 2012/04/06. eng.

45. Calza L, Manfredi R, Chiodo F. Hyperlipidaemia in patients with HIV-1 infection receiving highly active antiretroviral therapy: epidemiology, pathogenesis, clinical course and management. *International journal of antimicrobial agents*. 2003 Aug;22(2):89-99. PubMed PMID: 12927947. Epub 2003/08/21. eng.
46. Alam N, Cortina-Borja M, Goetghebuer T, Marczyńska M, Vigano A, Thorne C. Body fat abnormality in HIV-infected children and adolescents living in Europe: prevalence and risk factors. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*. 2012 Mar 1;59(3):314-24. PubMed PMID: 22205436. Pubmed Central PMCID: PMC3433033. Epub 2011/12/30. eng.