

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Genética

Josué Jeyzon de Lima Soares Valeriano

**Polimorfismos genéticos associados a efeitos adversos
neuropsiquiátricos em pacientes HIV positivos
submetidos à terapia com Efavirenz**

Recife

2016

Josué Jeyzon de Lima Soares Valeriano

**Polimorfismos genéticos associados a efeitos adversos
neuropsiquiátricos em pacientes HIV positivos
submetidos à terapia com Efavirenz**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Genética da
Universidade Federal de Pernambuco como parte
dos requisitos exigidos para obtenção do título de
Mestre em Genética.

Orientador: Rafael Lima Guimarães

Recife

2016

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Valeriano, Josué Jeyzon de Lima Soares

Polimorfismos genéticos associados a efeitos adversos neuropsiquiátricos em pacientes HIV positivos submetidos À terapia com Efavirenz / Josué Jeyzon de Lima Soares Valeriano. – Recife: O Autor, 2016.

110 f.: il.

Orientador: Rafael Lima Guimarães

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Genética, 2016.

Inclui referências, anexos e apêndices

1. AIDS (Doença) Pacientes 2. Polimorfismo (Genética) I. Guimarães, Rafael Lima (orient.) II. Título.

616.9792

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2016-197

Josué Jeyzon de Lima Soares Valeriano

**Polimorfismos genéticos associados a efeitos adversos neuropsiquiátricos
em pacientes HIV positivos submetidos à terapia com Efavirenz**

Aprovado em 09 / 03 / 2016

Banca Examinadora:

**Prof. Dr. Rafael Lima Guimarães
Universidade Federal de Pernambuco**

**Prof. Dr. Marcos André Cavalcanti Bezerra
Universidade Federal de Pernambuco**

**Dr. Luiz Cláudio Arraes de Alencar
Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira**

**Prof. Dr. João Ricardo Mendes de Oliveira
Universidade Federal de Pernambuco**

**Recife
2016**

Agradecimentos

Agradeço a Deus sobre todas as coisas...

Agradeço a minha família: minha mãe Ana Angélica, meu pai Josué, meus irmãos, minha avó, primos irmãos, todos àqueles que sempre me apoiaram e incentivaram.

Agradeço a minha esposa, Camila França, pelo seu apoio compreensão e companheirismo.

Agradeço a equipe do IMIP pelo apoio durante as coletas e análises dos prontuários.

Agradeço ao professor Dr. Rafael Lima Guimarães, pela oportunidade, orientação e confiança depositada.

Agradeço a todos os integrantes do nosso grupo de pesquisa PATGEN, aos professores Dr. Sérgio Crovella, Dr. Lucas Brandão, Dra. Paula Sandrin pelos ensinamentos, apoio, e principalmente pelo companheirismo que prevalece em nosso grupo.

Agradeço aos colegas do grupo Dr. Ronaldo Celerino, Me. Ronald Moura e Me. Antonio Coelho pelo apoio no desenvolvimento deste trabalho.

Resumo

A Terapia Antirretroviral Altamente Ativa (HAART) foi uma revolução que mudou drasticamente a evolução da infecção pelo HIV, transformando uma doença fatal em uma doença crônica. Efavirenz é um antirretroviral muito eficaz, mundialmente prescrito, presente no tratamento de primeira linha HAART, mas que apresenta uma alta frequência de efeitos neuropsiquiátricos que afetam a adesão ao tratamento, prejudicam a saúde e a qualidade de vida dos pacientes. Neste sentido, este estudo visa identificar polimorfismos genéticos associados à ocorrência de efeitos neuropsiquiátricos relatados no tratamento com Efavirenz em doses padrão. Através da análise retrospectiva dos prontuários dos 162 pacientes HIV positivos que utilizavam Efavirenz, 82 (50,6%) apresentaram efeitos adversos neuropsiquiátricos relacionados, dentre os quais: tonturas, cefaleia, insônia e depressão se mostraram os mais frequentes. Foi demonstrado que o uso da Zidovudina combinado ao Efavirenz, ao invés de Tenofovir (HR: 2,7; p-valor: 0,04), e o sexo feminino (HR: 3,5; p-valor: 0,05) aumentam o risco de tonturas e depressão, respectivamente, ao longo do tempo. Dez polimorfismos em sete genes (*CYP2B6*, *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC10*, *NR1I2* e *NR1I3*) foram analisados. Apenas o polimorfismo no gene *ABCC10* (rs2125739), alelo C, foi associado à ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos no tratamento com Efavirenz (OR: 2,6; p-valor: 0,03). Análises por regressão logística ajustada para variáveis demográficas, clínicas e genéticas, esta última relacionada ao aumento nas concentrações plasmáticas do Efavirenz, mostraram que os genótipos CT ou CC no rs2125739 estavam ainda mais associados com um risco elevado (OR: 5,1; p-valor: 0,007). Os resultados poderão contribuir para minimizar os riscos de ocorrência de efeitos neuropsiquiátricos na terapia com Efavirenz, mantendo sua efetividade, identificando pacientes susceptíveis e auxiliando na escolha da HAART combinada.

Palavras-chave: Efavirenz; HIV-1; Efeitos neuropsiquiátricos; HAART; *ABCC10*.

Abstract

Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART) was a revolution that changed the HIV dynamic infection, turning a fatal disease into a chronic one. Efavirenz is a very efficient globally prescribed antiretroviral, present in first line of HAART treatment, but which presents a high frequency of neuropsychiatric adverse effects that affect treatment adherence, damaging the patients' health and their quality of life. Thus, this study aims to identify genetic polymorphism associated with the occurrence of neuropsychiatric adverse effects in HIV-positive patients submitted to Efavirenz therapy in standard oral doses. Through retrospective analysis of medical records of 162 of these patients, 82 (50,6%) had neuropsychiatric adverse effects related, such as: dizziness, headache, depression and insomnia. Survival analysis demonstrated that the combined use of Efavirenz with Zidovudine instead of Tenofovir increases the dizziness risk (HR: 2.7; p value: 0.04), as well as female sex increases the depression risk (HR: 3.5; p-value: 0.05), both over time. Ten polymorphisms in seven genes (*CYP2B6*, *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, *ABCC10*, *NR1I2* and *NR1I3*) were genotyped. Only a polymorphism on *ABCC10* gene (rs2125739) was associated (C allele) with the neuropsychiatric adverse effects occurrence in treatment with Efavirenz (OR 2.6; p value: 0.03). Logistic regression analysis, adjusted to demographic, clinical and genetic variables related to increased plasma concentrations of Efavirenz, showed that the CT or CC genotypes at rs2125739 were even more significantly associated to a higher risk of neuropsychiatric effects (OR 5.1; p -value: 0.007). The results may help to minimize the neuropsychiatric effects risk in therapy with Efavirenz maintaining its effectiveness by identifying susceptible patients and assisting in the choice of combined HAART.

Key words: Efavirenz; HIV-1; Neuropsychiatric effects; HAART; ABC

Lista de Ilustrações

FIGURA 1: Impacto da implantação da HAART na epidemia do HIV/AIDS. Adaptado de UNAIDS 2015.....	8
FIGURA 2: Distribuição das novas infecções pelo HIV na América Latina no ano de 2014. Adaptado de UNAIDS, 2015.....	9
FIGURA 3: Esquema do genoma do HIV-1, onde são representados os genes que codificam as 15 proteínas virais. Figura modificada a partir HIV Sequence Compendium, 2014.....	10
FIGURA 4: Proteínas do HIV-1. Subdivide-se em proteínas estruturais, enzimas virais e proteínas acessórias. Todas as imagens são do RCSB Protein Databank, 2014.....	12
FIGURA 5: Genoma do HIV-1, envelope (bicamada lipídica) e HIV-1 maduro. Todas as imagens são do RCSB Protein Databank, 2014.....	13
FIGURA 6: Esquema passo a passo do ciclo replicativo do HIV-1. Adaptado de Engelman e Cherepanov, 2012.....	17
FIGURA 7: Curso clínico da infecção pelo HIV-1. A infecção primária é marcada por uma alta viremia (linha vermelha) acompanhada da queda do número de linfócitos T CD4+ (linha azul). Adaptado a partir de An e Winkler, 2010).....	20
FIGURA 8: (A) Estrutura molecular dos INTRs. (B) Estrutura molecular do INNTR mais prescritos. Adaptado de Michaud et. al., 2012.....	23
FIGURA 9: Vias metabólicas do Efavirenz. Adaptado de Julia di Iulio, et. al., 2009.....	33
FIGURA 10: (A e B) Frequência dos efeitos adversos neuropsiquiátricos relacionados ao EFV. (C) Distribuição de acordo com a HAART contendo EFV. (D) Interrupções da terapia com EFV devido a efeitos adversos neuropsiquiátricos.....	54

FIGURA 11: Distribuição da ocorrência dos efeitos tonturas, cefaleia, insônia e depressão antes e depois das primeiras quatro semanas de terapia com EFV.....	55
---	----

Lista de Tabelas

TABELA 1: Características clínicas e demográficas da população em estudo.....	53
TABELA 2: Análises estatísticas univariadas. (A) HAART contendo EFV versus HAART sem EFV para efeitos neuropsiquiátricos. (B) AZT versus TDF, ambos sem EFV para a ocorrência de tonturas. (C) Ambos os sexos para ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos relatados no tratamento com EFV.....	56
TABELA 3: Resultados das análises de sobrevivência para ocorrência de tonturas, depressão e insônia.....	58
TABELA 4: Frequências alélicas e genotípicas para os SNPs dos genes candidatos, testes de associação com a ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos relatados no tratamento com EFV.....	59
TABELA 5: Coeficientes estimados, OR (odds ratios) relacionadas, intervalos de confiança de 95% e p-valores do modelo de regressão logística para explicar a ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos relatados no tratamento com EFV.....	62

Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

Item	Definição
3TC	Lamivudina (antirretroviral)
95% IC	Intervalo de confiança de 95%
5-HT2A	Receptor de serotonina subtipo 2ª
ABC	Abacavir (antirretroviral)
ABCB1	Polipeptídeo membro 1 da família B da superfamília ABC (MDR1)
ABCC1	Polipeptídeo membro 1 da família C da superfamília ABC (MRP1)
ABCC2	Polipeptídeo membro 2 da família C da superfamília ABC (MRP2)
ABCC10	Polipeptídeo membro 10 da família C da superfamília ABC (MRP7)
ADME	Absorção, distribuição, metabolização e excreção
AEs	Efeitos adversos
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
APOBEC3G	Apolipoproteína B, família 3G. Fator de restrição que atua contra o HIV.
AZT	Zidovudina
CAR	<i>Constitutive Androstane Receptor</i> . Receptor de Androstano Constitutivo
CCR5	Receptores de quimiocina tipo 5
CD4	Receptor de membrana CD4
CD68+	Células que expressam o receptor de membrana CD68
CDC	<i>Center for Disease Control</i>
CK	Creatina Quinase
CRFs	Formas virais recombinantes circulantes
C ^{ss} Max	Concentração plasmática máxima <i>steady-state</i>
C ^{ss} min	Concentração plasmática mínima <i>steady-state</i>
CXCR4	Receptores de quimiocina tipo 4
CV	Carga viral
CYP	Superfamília citocromo P450
CYP1A2	Polipeptídeo membro 2 da subfamília A da família 1 da superfamília CYP

CYP2A6	Polipeptídeo membro 6 da subfamília A da família 2 da superfamília CYP
CYP2B6	Polipeptídeo membro 6 da subfamília B da família 2 da superfamília CYP
CYP2C9	Polipeptídeo membro 9 da subfamília C da família 2 da superfamília CYP
CYP2C19	Polipeptídeo membro 19 da subfamília C da família 2 da superfamília CYP
CYP3A4	Polipeptídeo membro 4 da subfamília A da família 3 da superfamília CYP
CYP3A5	Polipeptídeo membro 5 da subfamília A da família 3 da superfamília CYP
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dsDNA	DNA dupla fita
DSM-5	Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, 5ª edição
DTN	Defeitos no tubo neural
EFV	Efavirenz
dNTP	Deoxinucleosídeo Trifosfato
ESCRT	<i>Endosomal sorting complex required for transport</i> . Complexo proteico envolvido no escape do vírus
<i>env</i>	Gene estrutural do HIV-1
EUA	Estados Unidos da América
<i>gag</i>	Gene estrutural do HIV-1
<i>gag</i>	Polipeptídeo do HIV-1 precursor das proteínas p7, p17 e p24
<i>gag-pol</i>	Polipeptídeo do HIV-1 precursor das proteínas TR e IN
gp120	Glicoproteína do envelope gp120
gp41	Glicoproteína do envelope gp41
HAART	<i>Highly Active Antiretroviral Therapy</i> , Terapia Antirretroviral Altamente Ativa
HIV-1	Vírus da imunodeficiência humana tipo 1
HIV-2	Vírus da imunodeficiência humana tipo 2
HR	<i>hazard ratios</i>
IAC	Inibidores antagonistas do CCR5
IF	Inibidores de fusão
IL-1b	Interleucina 1 beta
IN	Integrase do HIV-1

INSTI	<i>Integrase Strand Transfer Inhibitor</i> . Inibidores de integrase
INNTR	Inibidores da transcriptase reversos não análogos a nucleosídeos
INTR	Inibidores da transcriptase reversa análogos a nucleosídeos
IP	Inibidor de protease do HIV-1
LCR	Líquido cefalorraquidiano
LEDGF	<i>Lens epithelium-derived growth factor</i> . Fator de crescimento derivado do epitélio da lente
LPV/r	Combinação de Lopinavir com Ritonavir
LTR	<i>Long terminal repeats</i> , repetições terminais longas
M	Grupo do HIV-1 denominado <i>Main</i>
MAF	<i>Minimum Allele Frequency</i>
Mg	Miligramas(s)
MI	Mililitro(s)
mm ³	Milímetro cúbico (s)
MDR1	Polipeptídeo de transporte de drogas p-gp (sinônimo de ABCB1)
MPR	<i>Medication Possession Ratio</i>
MRP1	Polipeptídeo de resistência a múltiplas drogas tipo 1 (sinônimo de ABCC1)
MRP2	Polipeptídeo de resistência a múltiplas drogas tipo 2 (sinônimo de ABCC2)
MRP7	Polipeptídeo de resistência a múltiplas drogas tipo 7 (sinônimo de ABCC10)
N	Grupo do HIV-1 denominado <i>Non Main and Non O</i>
<i>nef</i>	Gene funcional do HIV-1
Nef	Proteína do HIV-1 que atua impedindo mecanismos de defesa da célula infectada, codificada pelo gene <i>nef</i> .
NR1/2	Gene que codifica para o polipeptídeo membro 2 da subfamília I da família 1 da superfamília NR (PXR)
NR1/3	Gene que codifica para o polipeptídeo membro 3 da subfamília I da família 1 da superfamília NR (CAR)
NVP	Nevirapina
O	Grupo do HIV-1 denominado <i>Outlier</i>

OH	Hidroxila
OR	<i>Odds ratios</i>
ORF	Matriz aberta de leitura
P	Protease do HIV-1
p6	Proteína do HIV-1
p7	Proteína do nucleocapsídeo do HIV-1
p17	Proteína da matriz do HIV-1
p24	Proteína do capsídeo viral do HIV-1
PCR	Reação em cadeia da DNA polimerase
Ph	Potencial hidrogeniônico
PIC	Complexo de pré-integração (HIV-1)
p-gp	Glicoproteína de permeabilidade (sinônimo de ABCB1)
<i>pol</i>	Gene estrutural do HIV-1
PXR	<i>Pregnane X Receptor</i> . Receptor X pregnano
P-TEFb	Fator de alongamento de transcrição positiva b
PVHA	Pessoas vivendo com HIV/AIDS
<i>ver</i>	Gene funcional do HIV-1
Ver	Proteína regulatória do HIV-1 codificada pelo gene <i>rev</i> .
RNA	Ácido Ribonucleico
RTV	Ritonavir
SIV	<i>Simian Immunodeficiency Virus</i> . Vírus da Imunodeficiência de Símios
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i> , Polimorfismo de Nucleotídeo Único
SRA	Síndrome Retroviral Aguda
SS	<i>Steady-state</i> . Concentração plasmática no estado estacionário
<i>tat</i>	Gene funcional do HIV-1
Tat	Proteína regulatória do HIV-1 codificada pelo gene <i>tat</i> .
TDF	Tenofovir
TERTERINA	Fator de restrição que atua contra o HIV.

TR	Transcriptase Reversa
TRIM5	Fator de restrição que atua contra o HIV.
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral α
UGT2B7	Polipeptídio membro 7 da subfamília B da família 2 da superfamília UGT
UNAIDS	Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS
Ug	Micrograma
URFs	Formas virais recombinantes únicas
<i>vif</i>	Gene funcional do HIV-1
<i>vpr</i>	Gene funcional do HIV-1
Vpr	Proteína do HIV-1 responsável pelo transporte viral codificada pelo gene <i>vpr</i> .
<i>vpu</i>	Gene funcional do HIV-1
Vpu	Proteína do HIV-1, responsável pelo escape do vírus, codificada pelo gene <i>vpu</i> .

Sumário

Resumo	iii
Abstract	iv
Lista de ilustrações	v
Lista de Tabelas	vii
Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos	viii
1. Introdução	1
2. Revisão da Literatura	3
2.1 Síndrome da Imunodeficiência Humana (AIDS)	3
2.1.1 Histórico	3
2.1.2 Epidemiologia	6
2.1.3 Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1 (HIV-1)	9
2.1.4 Estrutura viral e ciclo replicativo	11
2.1.5 Patogênese	17
2.2 Terapia antirretroviral	20
2.3 Terapia Antirretroviral Altamente Ativa (HAART)	21
2.3.1 Efeitos adversos à HAART	26
2.4 Terapia antirretroviral com Efavirenz	27
2.4.1 Farmacocinética do Efavirenz	28

2.4.1.1 Absorção	29
2.4.1.2 Distribuição	30
2.4.1.3 Metabolização	31
2.4.1.4 Eliminação	34
2.4.2 Farmacodinâmica do Efavirenz	34
2.4.3 Farmacogenética relacionada com Efavirenz	35
2.4.3.1 Polimorfismos genéticos associados ao aumento na exposição ao Efavirenz	36
2.4.3.2 Polimorfismos genéticos associados à diminuição na exposição ao Efavirenz	38
2.4.3.3 Polimorfismos genéticos associados a efeitos adversos do Efavirenz	38
2.4.3.4 Outros polimorfismos genéticos que podem está associado a efeitos adversos relacionados ao Efavirenz	39
2.4.4 Efeitos neuropsiquiátricos causados pelo Efavirenz e possíveis mecanismos	40
3. Objetivos	43
3.1 Objetivo geral	43
3.2 Objetivos específicos	43
4. Material e Métodos	44

4.1 Extração de DNA	44
4.2 Análises dos prontuários	45
4.3 Desenho do estudo e caracterização dos grupos	45
4.3.1 Critérios de admissibilidade	48
4.4 Aspectos éticos da pesquisa	49
4.5 Variáveis estudadas	49
4.5.1 Variáveis clínicas e epidemiológicas	49
4.5.2 Polimorfismos genéticos	50
4.6 Genotipagem	50
4.7 Análises estatísticas	51
5. Resultados	52
5.1 População de estudo	52
5.2 Frequência dos efeitos adversos neuropsiquiátricos	53
5.3 Análises estatísticas univariadas	56
5.4 Análises de sobrevivência	57
5.5 Genotipagem	58
5.6.1 Frequências alélicas e genotípicas dos genes candidatos	58
e resultados da associação estatística	
5.6 Regressão Logística	60
6. Discussão	62

7. Conclusão	69
8. Referências Bibliográficas	71

1. Introdução

Atualmente, existem aproximadamente 37 milhões de pessoas vivendo com HIV/AIDS em todo mundo. No ano de 2014, cerca de 2,0 milhões de pessoas foram infectadas com o HIV e 1,2 milhões de pessoas morreram devido a causas relacionadas ao HIV/AIDS. Estes dados refletem um aumento de pessoas vivendo com HIV/AIDS no mundo devido ao acesso da população à terapia anti-HIV, que até o ano de 2015 era de 15,8 milhões de pessoas; um decréscimo de 35% no número de novas infecções desde o ano 2000 (58% entre as crianças) e um decréscimo de 42% no número de mortes relacionadas ao HIV/AIDS desde o pico em 2004. Assim, com mais e mais países batendo a meta de redução da epidemia, a UNAIDS espera acabar com a epidemia de AIDS até 2030.

A Terapia Antirretroviral Altamente Ativa (HAART) é a principal causa da mudança drástica na evolução da infecção pelo HIV-1, transformando uma doença fatal, com baixas taxas de sobrevivência, em uma doença crônica. Nos últimos anos, graças ao desenvolvimento de novas drogas e abordagens terapêuticas, o estado clínico dos pacientes é muito diferente e aspectos relacionados com a qualidade de vida e a saúde dos pacientes na terapia se tornaram mais relevantes.

Entre os principais efeitos adversos relacionados com a HAART em longo prazo, estão os efeitos neuropsiquiátricos causados em grande parte pelo Efavirenz (EFV), que podem levar à baixa adesão à terapia, e risco de dano grave ao sistema nervoso. O EFV é um antirretroviral que faz parte da HAART de primeira linha, mundialmente prescrito e altamente eficaz no combate à infecção pelo HIV-1. Tem boa farmacocinética e devido à sua acessibilidade ao Sistema Nervoso Central

(SNC) é considerado um fármaco neuroativo, que ajuda a reduzir os danos ao cérebro causados pelo HIV-1.

Apesar de manter um bom perfil de segurança, na prática clínica apresenta-se uma alta taxa de pacientes que relataram queixas neuropsiquiátricas (cerca de 40% a 70%) em resposta ao EFV, e o mesmo já se mostrou tóxico em cultura de neurônios de rato. Entre tirar o EFV da terapia contra o HIV, a despeito de sua eficácia, e mantê-lo com o custo de seus efeitos adversos, tem se escolhido a segunda opção, analisável em cada caso, visto que há pacientes que evoluem em variação e intensidade para efeitos neuropsiquiátricos, e outros que toleram bem e nem sequer apresentam efeitos colaterais à droga.

O mecanismo exato de neurotoxicidade ainda se mantém desconhecido, mas vários estudos têm associado esta toxicidade às elevadas concentrações plasmáticas, e à exposição aumentada à droga do sistema nervoso central, e do organismo como um todo. Esta variabilidade na resposta pode ser atribuída à variabilidade interindividual na farmacocinética do EFV e às proteínas que podem interagir em qualquer das etapas da farmacocinética, principalmente no aporte do EFV e seus metabólitos ao SNC. Conhecendo essas variabilidades que levam à resposta diversa, no que tange à neurotoxicidade ao EFV, seria possível em um futuro próximo, fazer o diagnóstico e poder personalizar a terapia, assim evitando todos os riscos que esses efeitos neuropsiquiátricos prolongados podem trazer.

Baseado nesta perspectiva, este estudo visa identificar polimorfismos em genes que codificam para proteínas envolvidas nas vias da farmacocinética de antirretrovirais associados aos efeitos neuropsiquiátricos relacionados ao EFV de maneiras geral e específica, buscando encontrar associações com efeitos neuropsiquiátricos individualizados, e o impacto de polimorfismos genéticos

relacionados com o aumento nas concentrações plasmáticas do EFV, nos efeitos adversos neuropsiquiátricos a este medicamento.

2. Revisão da Literatura

2.1 Síndrome da Imunodeficiência Humana (AIDS)

2.1.1 Histórico

O *Center for Disease Control* (CDC) publicou, em meados de 1981, informações epidemiológicas de cinco jovens do sexo masculino, oriundos da cidade de Los Angeles (EUA) que estavam portando uma doença característica de sistemas imunológicos deprimidos, a pneumonia causada por *Pneumocystis carinii* (*Center for Disease Control*, 1981). Um mês após o ocorrido e novos casos semelhantes, foram identificados mais infecções por outras doenças oportunistas e Sarcoma de Kaposi em homens homossexuais da Califórnia e Nova York (De Cock et. al., 2011).

A ausência de histórico de imunodeficiência e a homossexualidade dos indivíduos levou o primeiro editorial de acompanhamento a sugerir que esta nova doença estaria relacionada ao comportamento sexual de homens (De Cock et al., 2011). Após este fato e outros relatos semelhantes, foi levantada a hipótese de que se tratava de uma doença que era transmitida pelo sexo em homossexuais, que causava imunodepressão, e que levava os infectados a serem facilmente acometidos pelas doenças oportunistas (*Center for Disease Control*, 1981).

O CDC, então, liderou ações de vigilância nacional a fim de identificar os fatores de risco dessa nova doença, que, posteriormente, foi nomeada de Síndrome

da Imunodeficiência Adquirida (do inglês, *Acquired Immunodeficiency Syndrome – AIDS*) (Center for Disease Control, 1982a).

O CDC, posteriormente, publicou relatos de usuários de drogas intravenosas e pessoas sem histórico de sexo homossexual que apresentavam sinais típicos da doença. Em seguida, foi a vez de hemofílicos serem identificados apresentando sintomas típicos da *AIDS*. Esses fatos mudaram a forma de pensar sobre a doença, pois se descobriu que o agente etiológico não era só transmissível pelo sexo em homossexuais, mas também por sexo heterossexual, por sangue e hemoderivados contaminados, mas o agente causador permanecia desconhecido (Center for Disease Control, 1982b).

Em 1983, após mais de 1000 casos de *AIDS*, tanto nos EUA quanto em outros países, o CDC conclui que a doença é transmissível por um agente capaz de ficar latente no indivíduo antes mesmo de causar *AIDS*, e este indivíduo portador poderia transmitir a doença sem mesmo apresentar os sintomas, o que tornaria mais difícil a identificação dos infectados. Isso levou as autoridades a concluírem que havia muito mais pessoas infectadas do que os casos confirmados até a presente data. Por conta disso, as recomendações eram para que pessoas pertencentes a grupos de risco, tais como usuários de drogas injetáveis e pessoas com muitos parceiros evitassem compartilhar seringas e ou reduzissem o número de parceiros sexuais, e que não doassem sangue ou plasma (Center for Disease Control, 1983).

Ainda em 1983, dois grupos independentes isolaram o patógeno de células do sistema imune de pacientes com sintomas de *AIDS*. Era um retrovírus, vírus de Ácido Ribonucleico (RNA), que infecta as células e as utiliza para se replicar, se retrotranscrevendo e se integrando ao Ácido Desoxirribonucleico (DNA) nuclear, que

mais tarde iria ser conhecido como o vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) (Barre-Sinoussi et. al. 1983; Gallo et. al., 1983).

Estudos retrospectivos demonstraram que o HIV-1 surgiu na África, derivado de um Vírus da Imunodeficiência de Símios (do inglês, *simian immunodeficiency virus*, SIV) que infectava chimpanzés e, após mutações, passou a infectar humanos. Os humanos entravam em contato com o vírus através do hábito que existia em alguns povoados de se alimentar da carne desses animais (De Cock et al., 2011). Após um processo de adaptação ao hospedeiro humano, o HIV-1 passou a ser transmissível entre pessoas. O mais antigo relato de diagnóstico de HIV-1 foi em Kishna, capital da República Democrática do Congo, através de uma amostra de soro coletada em 1959 (De Cock et. al., 2011). Um segundo tipo de HIV, denominado HIV-2, teve surgimento na África ocidental, derivado de outro SIV, que infectava mangabeis. (Center for Disease Control, 1983; De Cock et. al., 2011).

Modelos matemáticos da evolução do HIV estimam que o vírus tenha feito transição para a espécie humana no início da década de 1930 (Lee, et. al. 2009), acredita-se que a doença tenha ficado latente, sem ser notada, tendo em vista que a transmissão estava limitada a pequenos povoados onde as taxas de promiscuidade sexual eram baixas. Após o declínio do colonialismo europeu na África Central, a população foi se tornando cada vez mais urbana, o que contribuiu para disseminar a doença (De Cock et al., 2011). Fatores presentes na vida urbana, tais como: pobreza, aumento da prostituição, saúde precária, exploração sexual e baixo índice de tratamento para doenças sexualmente transmissíveis ulcerativas (que facilitam a transmissão do HIV) contribuíram para a proliferação do HIV na África (De Cock et al., 2011).

No mundo Ocidental, o primeiro caso confirmado de *AIDS* foi de um marinheiro norueguês em 1976, que provavelmente foi infectado em 1961 ou 1962 através de contatos no oeste da África (De Cock et. al., 2011).

Entre os anos 1960 e 1970, o subtipo B do HIV-1 foi introduzido no Haiti. Posteriormente, o vírus foi introduzido nos EUA e em outras partes do mundo, onde, inicialmente, permaneceu em circulação sem registro de casos. Estima-se que milhares de pessoas já haviam sido contaminadas por volta de 1970 (Gilbert et al., 2007).

2.1.2 Epidemiologia

No mundo, aproximadamente, 37 milhões [34,3 milhões – 41,4 milhões] de pessoas viviam com HIV/AIDS (PVHA) ao final de 2014. O número de novos casos foi de 2 milhões em 2014, representando uma redução de 35% desde o ano 2000 (UNAIDS, 2015). A África Subsaariana continua sendo a mais afetada com um total de 25,8 milhões [24 milhões – 28,7 milhões] de PVHA, correspondendo a 70% das pessoas que vivem com HIV em todo o mundo (UNAIDS, 2015). Em segundo lugar está a região correspondente ao sul, sudeste e leste da Ásia e Pacífico com 5 milhões [4,5 milhões – 5,6 milhões] de PVHA (UNAIDS, 2015). Outras regiões com dados alarmantes são o Caribe e a Europa Oriental/Ásia Central, onde esta é a única região que o número de novas infecções continua a aumentar no mundo e aquela é a segunda maior em prevalência apesar do número menor de portadores em comparação com outras regiões (UNAIDS, 2015).

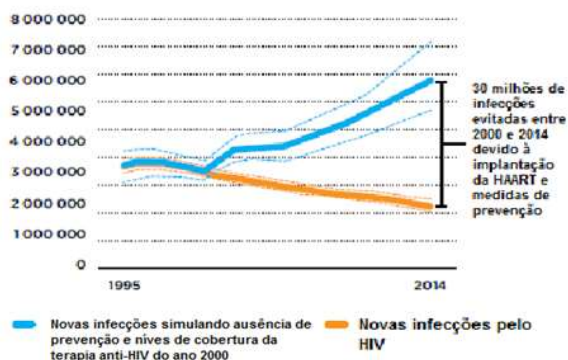
O número de pessoas que morrem por causas relacionadas à AIDS diminuiu 42% desde seu pico em 2004 devido à eficácia do tratamento anti-HIV e devido ao

seu acesso pela população, que atualmente corresponde a 15,8 milhões de pessoas em todo o mundo. Estima-se que 1,2 milhões [980 mil – 1,6 milhões] de pessoas morreram por causas relacionadas à AIDS no ano de 2014 (UNAIDS, 2015).

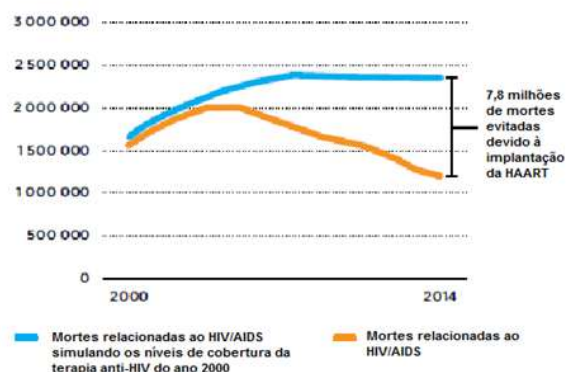
Um dos maiores avanços no combate à epidemia HIV/AIDS tem sido a redução de novas infecções em crianças, com idade inferior a 15 anos. Atualmente, 73% [68% - 79%] das mulheres grávidas vivendo com HIV/AIDS no mundo receberam HAART para impedir a transmissão do vírus para seus bebês, isto representa um aumento de 36% desde 2009. Em 2000 apenas 1% das mulheres grávidas vivendo com HIV/AIDS tiveram acesso a qualquer forma de prevenção de transmissão do HIV para seus bebês (UNAIDS, 2015).

A HAART, terapia utilizada no tratamento anti-HIV, é a principal responsável pelas reduções drásticas no número da mortalidade de pessoas por causas relacionadas ao HIV/AIDS, pelo aumento da qualidade e expectativa de vida das PVHA, e pela redução no número de novas infecções. Os programas de prevenção do HIV tem uma importância considerável na redução do número de novos casos, e tiveram, principalmente, quando a HAART não tinha sido suficientemente implantada (UNAIDS, 2015). A figura 1 demonstra o número de mortes relacionadas à doença, número de novas infecções nos últimos anos e o número de crianças que ficaram órfãs devido ao HIV/AIDS enfocando o impacto da implantação da HAART.

Novas infecções pelo HIV



Mortes relacionadas ao HIV/AIDS, global 2000 - 2014



Número total de crianças que perderam um ou ambos os pais devido à causas relacionadas ao HIV/AIDS

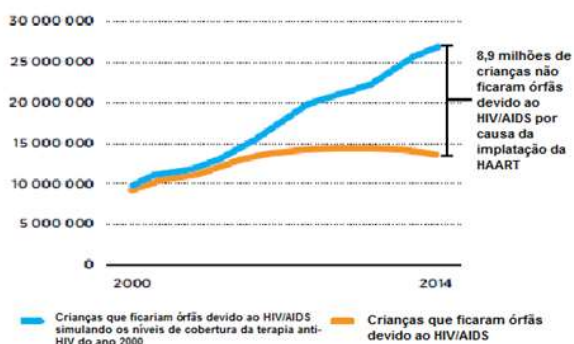


FIGURA 1: Impacto da implantação da HAART na epidemia do HIV/AIDS. Adaptado de UNAIDS 2015

Na América Latina existem cerca de 1,7 milhões [1,4 milhões – 2 milhões] de pessoas vivendo com HIV/AIDS. O número de novas infecções no ano de 2014 foi de 87 mil, confirmando um declínio de 17% entre 2000 e 2014. O Brasil responde por cerca de metade de todas as novas infecções por HIV na região (figura 2) (UNAIDS, 2015).

Estima-se, ao final de 2014, aproximadamente 781 mil PVHA no Brasil, apresentando uma taxa de prevalência de 0,39%. Dessas, 83% haviam sido diagnosticadas (Ministério da Saúde, 2015).

A região Nordeste, desde 2007 a 2015, apresentou 9610 novas infecções pelo HIV, isto representa 10,3% dos novos casos no período em todo Brasil.

Pernambuco é o segundo em PVHA na região, estando atrás do estado da Bahia (Ministério da Saúde, 2015).

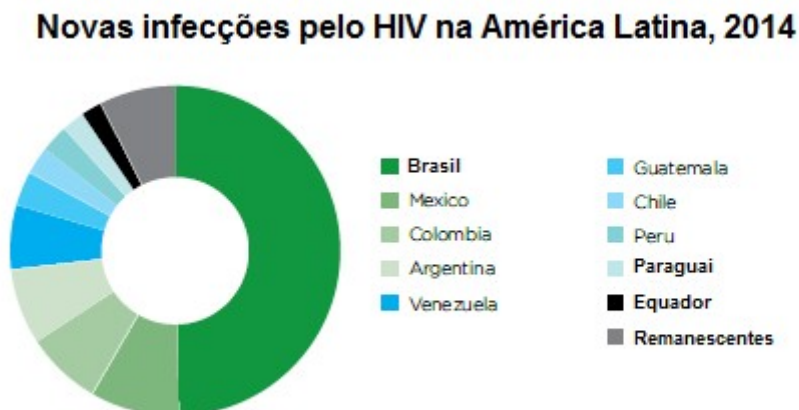


FIGURA 2: Distribuição das novas infecções pelo HIV na América Latina no ano de 2014. Adaptado de UNAIDS, 2015.

2.1.3 Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1 (HIV-1)

O HIV-1 pertence à família Retroviridae, gênero Lentivirus, é um vírus envelopado com um genoma constituído por duas moléculas de RNA de fita simples, cercado por uma dupla camada de fosfolipídios derivado da célula hospedeira, incluindo proteínas de membrana, que tem a capacidade de sintetizar DNA através de seu RNA viral (Connor & Ho 1992). Seu material genético possui 9181 nucleotídeos, distribuídos em nove matrizes abertas de leitura (ORF). Codifica 15 proteínas típicas da família Retroviridae, codificada por três genes estruturais (*gag*, *env*, *pol*) e seis genes funcionais (*tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr* e *vpu*) (

FIGURA 3). Dentre as proteínas temos as proteínas estruturais: proteína de matriz (p17), proteína do capsídeo (p24), nucleocapsídeo (p7), proteína p6, codificadas pelo *gag*; glicoproteína do envelope gp120 (gp120) e glicoproteína do envelope gp41 (gp41), envolvidas na formação do envelope viral lipoproteico e na

entrada do vírus na célula alvo, codificadas pelo *env* (Watts et al., 2009; HIV Sequence Compendium 2014).

A ORF *gag-pol* codifica um polipeptídeo que, após clivado, origina as enzimas viriais: transcriptase reversa (TR) e a integrase (IN), envolvidas na replicação, maturação e capacidade infecciosa da partícula viral. Outros seis genes funcionais (*vif*, *vpr*, *tat*, *rev*, *nef* e *vpu*) codificam proteínas regulatórias e acessórias também envolvidas na infecção e patogênese. Em ambas as extremidades, 5' e 3' do genoma, existem repetições terminais longas (LTR), com a função de inserir o genoma viral no hospedeiro e regular a expressão de seus próprios genes (Watts et al., 2009; HIV Sequence Compendium 2014).

A diversidade genética do HIV-1 o levou a ser classificado e subdividido em grupos e subgrupos. Os grupos *Main* (M), *Outlier* (O), *non-M* e *non-O* (N); e o grupo P (Simon et. al., 1998; Robertson et. al. 2000; Plantier et. al. 2009). O grupo M é caracterizado em nove subtipos (A, B, C, D, F, G, H, J e K), 4 sub-subtipos do subtipo A (A1, A2, A3 e A4) e dois sub-subtipos do tipo F (F1 e F2), 51 formas recombinantes circulantes (CRFs) e formas recombinantes únicas (URFs) (HIV Sequence Compendium 2014). As CRFs são formas híbridas, originadas de um mesmo evento de recombinação entre dois subtipos diferentes desde que não haja vínculo epidemiológico entre eles. Para nomeá-las é estabelecido um número, relacionado à ordem de descrição, seguido dos subtipos envolvidos na recombinação, por exemplo: o primeiro recombinante descrito entre os subtipos A e E foi CRF01_ AE (Robertson et. al., 2000). Existem CRFs complexos formados a partir da recombinação de mais de dois subtipos que são denominados CRFs cpx (complexo) (Robertson et. al., 2000).

Existem ainda as formas recombinantes únicas (URF) cujas cepas virais não constituem um grupo filogenético definido, identificado em apenas um indivíduo ou grupo de indivíduos com vínculo epidemiológico (Robertson et al. 2000). O esquema do genoma do HIV-1 é representado na figura 3, a seguir.

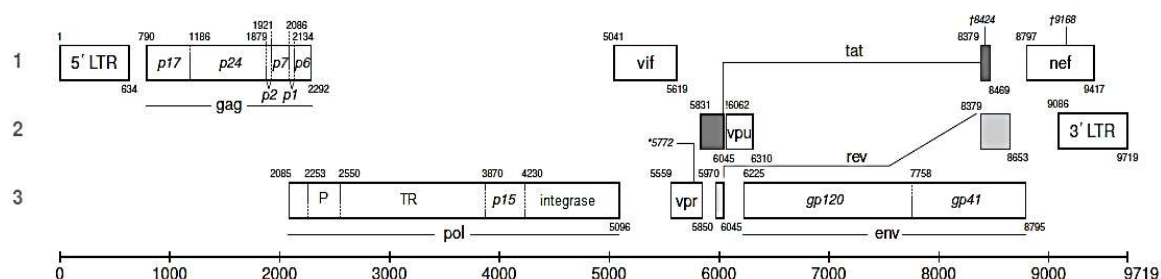


FIGURA 3. Esquema do genoma do HIV-1, onde são representados os genes que codificam as 15 proteínas virais. Flanqueando esses genes, existem repetições terminais longas (LTR), envolvidas na regulação do genoma. Figura modificada a partir HIV Sequence Compendium, 2014.

2.1.4 Estrutura viral e ciclo replicativo

O HIV-1 é esférico (figura 4 e 5), constituído por um envelope formado por uma bicamada lipídica derivada da célula do hospedeiro e as gp120 e gp41 responsáveis pela entrada do vírus na célula do hospedeiro. Em seu interior, uma matriz proteica (p17) envolve o capsídeo viral (p24). Dentro do capsídeo está o genoma viral que consiste de duas fitas simples de RNA associadas a três enzimas virais, TR, IN e protease (P) (Barre-Sinoussi, 1996). Além disso, existem as seis proteínas acessórias responsáveis pela resistência viral, infecção e patogênese (Watts et al., 2009) (figura 4).

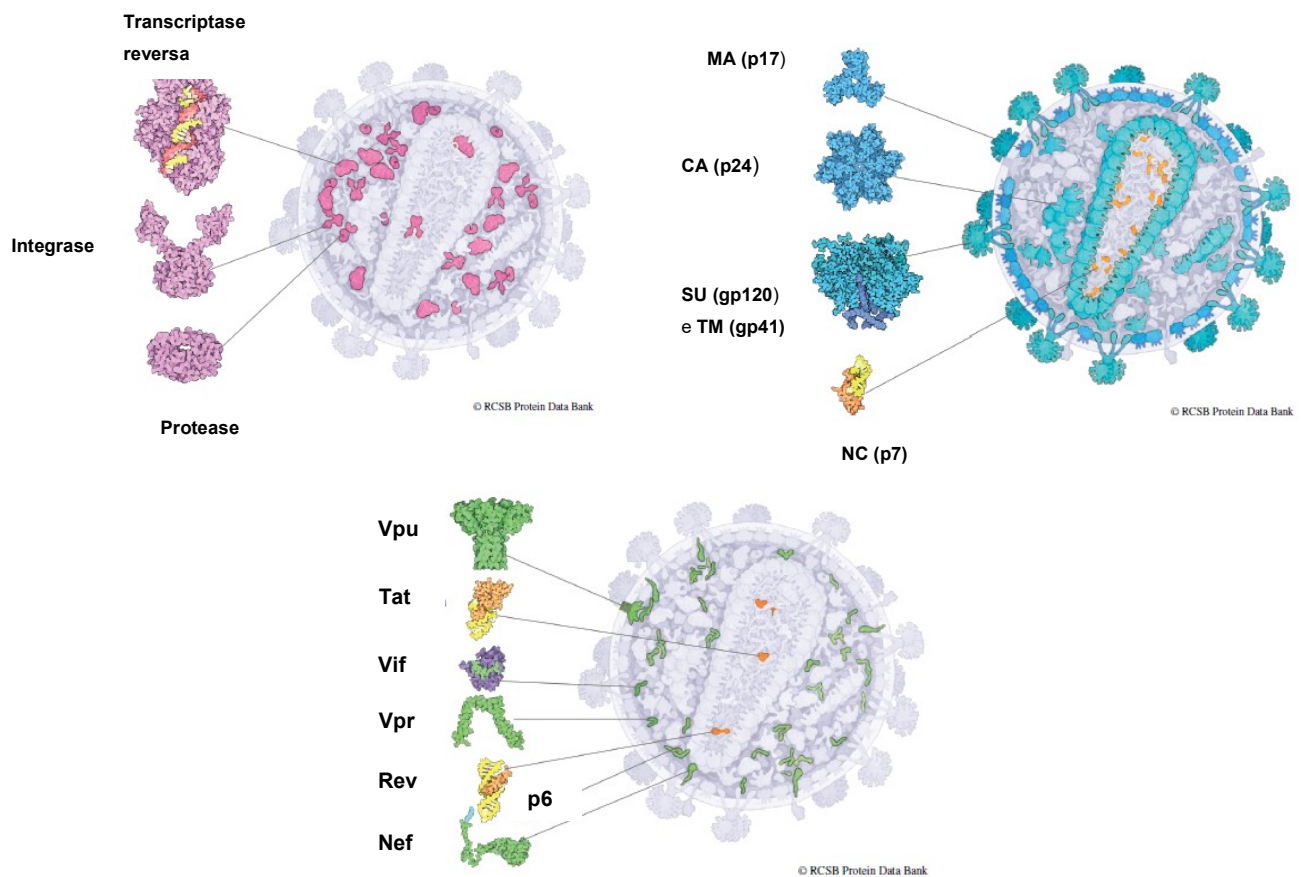


FIGURA 4: Proteínas do HIV-1. Subdivide-se em proteínas estruturais (p17, p24, gp120, gp41, p6 e p7) enzimas virais (transcriptase reversa, protease, integrase) e proteínas acessórias (Vpu, Tat, Vif, Vpr, Ver, Nef). Todas as imagens são do RCSB Protein Databank, 2014.

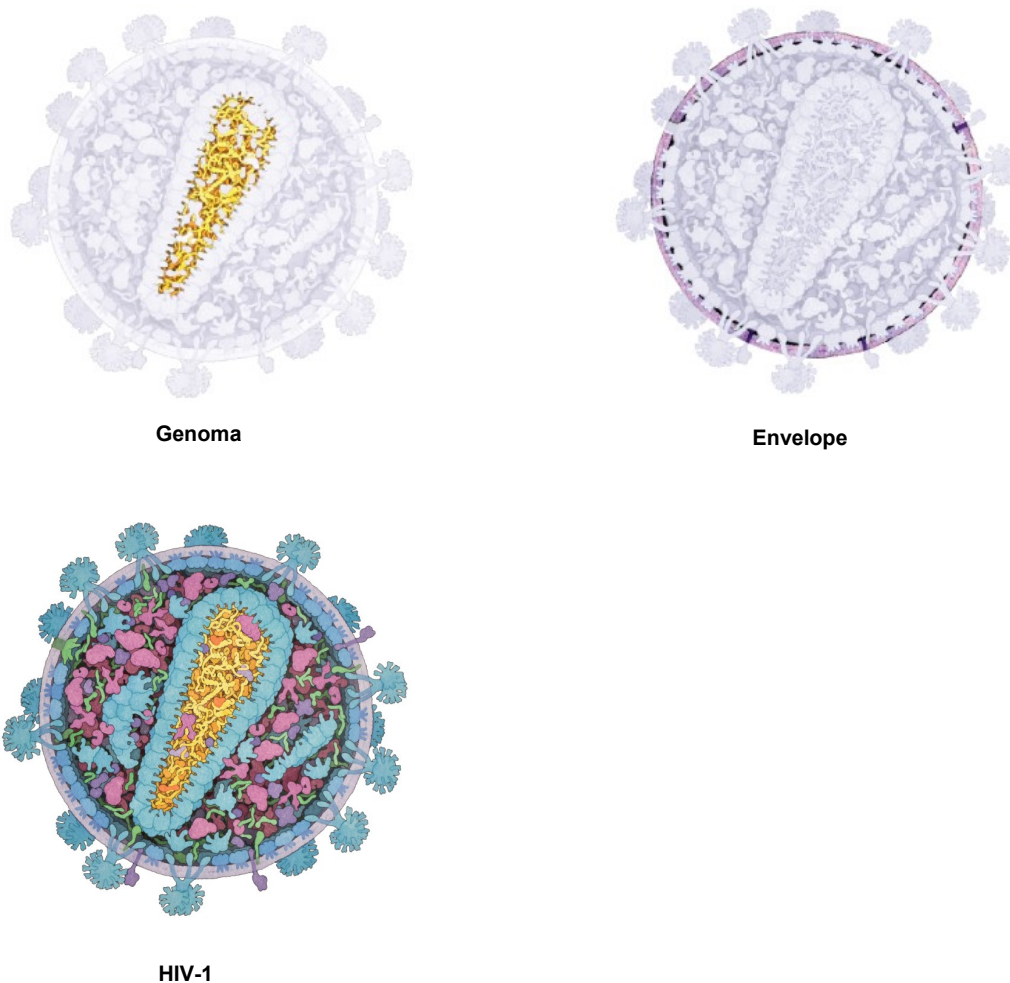


FIGURA 5: Genoma do HIV-1, envelope (bicamada lipídica) e HIV-1 maduro. Todas as imagens são do RCSB Protein Databank, 2014.

A TR é constituída por dois monômeros: p51e p66, e tem a função de sintetizar DNA a partir do RNA viral (Connor & Ho 1992). Esta enzima não tem capacidade de reparar erros que podem ocorrer durante a retrotranscrição, o que eleva as taxas de mutações. A P tem a função processar as poliproteínas gag (gerando as proteínas p24, p17 e p7) e gag-pol (produzindo as enzimas virais TR e IN). A IN tem a função de processar a incorporação do DNA viral ao DNA da célula alvo. O genoma viral integrado é denominado “provírus” (Connor & Ho 1992). A IN também têm outras funções tais como: cooperação na retrotranscrição, importação

ao núcleo celular dos complexos pré-integração e produção de partículas virais (Mulder et. al., 2002).

A proteína regulatória Tat é um ativador de transcrição, agindo dentro do núcleo e nucléolo de células infectadas se ligando a partir de LTR, quando o RNA viral forma um hairpin, tem a função de potencializar a síntese de partículas virais (Péloponèse Jr, et. al., 2000). Rev atua se ligando ao hairpin formado no RNA viral e tem a função de regular o splicing e o transporte deste RNA (Battiste, et al., 1996).

A proteína Nef atua na célula infectada, impedindo que esta codifique proteínas essenciais à sua defesa, sendo muito importante na progressão da infecção por HIV-1 para *AIDS*. Vpr atua no transporte do genoma viral para o núcleo. Vpu atua no escape do vírus após a floração, mediante brotamento das partículas virais recém produzidas. Vif atua na formação da estrutura do capsídeo e bloqueia a atividade antiviral da enzima das células infectadas APOBEC3G (Apolipoproteína B, família 3G) (Geyer, et al. 1999; Wecker, et al., 2002; Park, et al., 2003; Stanley, et al., 2008)

O HIV-1 tem afinidade por células que expressam o receptor CD4 e os receptores de quimiocinas, receptor tipo 5 (CCR5) e receptor de quimiocina tipo 4 (CXCR4). Nestas se incluem os linfócitos T CD4+; monócitos e macrófagos (CD68+) presentes em linfonodos, baço, fígado, cérebro, pulmão e medula óssea; e células dendríticas presentes em centros germinais linfoides e superfícies linfoepiteliais, tais como vagina, amídalas e reto (Lucas & Nelson, 2015). As células infectadas liberam partículas virais maduras no plasma sanguíneo e em fluidos corporais, tais como, fluido vaginal, sêmen e leite materno, que podem ser transmitida para outro indivíduo, através do contato sexual sem preservativo, amamentação, transfusão de sangue e uso de seringas contaminadas (Kilmarx, 2009). A transmissão do HIV-1

também pode ocorrer de mãe para filho, na gravidez, na hora do parto ou na amamentação (Kourtis e Bulterys, 2010).

O ciclo replicativo do HIV-1 (figura 6) pode ser descrito em seis etapas: ligação e penetração na célula alvo; desnudamento; retrotranscrição; integração; síntese e montagem; e por fim, escape e maturação (Fanales-Belasio et al., 2010).

As proteínas gp120 e gp41 do envelope viral são reconhecidas pelas proteínas CD4 presentes nas células linfoides. No contato, interações conformacionais ocorrem em gp120, levando a interações com correceptores de quimiocina causando uma exposição de domínio hidrofóbico em gp41, chamado peptídeo de fusão, que se insere na membrana celular, permitindo que esta se fundisse com o envelope viral levando a penetração do capsídeo (Berger et al., 1999; Weiss, 2002; Fanales-Belasio et al., 2010).

No citoplasma, o capsídeo viral é desmontado (desnudamento), liberando as duas moléculas de RNA viral e suas proteínas, necessárias à replicação e integração. A TR executa a retrotranscrição, podendo usar os dois moldes distintamente, primeiramente sintetizando um DNA de fita simples, depois utilizando este como molde para sintetizar o DNA dupla fita (dsDNA). O RNA viral é degradado por uma RNase presente na TR (Votteler e Schubert, 2008). Assim o genoma proviral é sintetizado. Em seguida o dsDNA viral se associa a um complexo de pré-integração (PIC), e este é transportado para o núcleo da célula, onde a enzima IN, auxiliada por outras proteínas, atua para a ligação do dsDNA viral ao genoma celular. No DNA celular o provírus comanda a síntese do seu RNA genômico e suas proteínas, que são montados em novas partículas virais, que então brotam da célula, levando consigo partes da membrana celular para constituir um novo envelope (Votteler e Schubert, 2008; Michaud, et al., 2012; Engelman e Cherepanov, 2012).

No meio extracelular, as partículas virais, que recentemente saíram da célula, são imaturas e não infecciosas. Doravante, a P viral cliva polipeptídeos gag-pol, tornando o vírus maduro, e infeccioso pronto para um novo ciclo replicativo (Votteler J e Schubert U, 2008).

Durante a agressão à célula causada pelo HIV-1, a fim de se replicar, este explora uma gama de fatores celulares, enquanto fatores de restrição lutam para suprimir a replicação. Estes fatores, representados pelo conjunto APOBEC3G, TRIM5 e TETERINA, representam um mecanismo de defesa intrínseco, sendo ativado logo após a entrada do vírus (Chakrabarti e Simon, 2010; Engelman e Cherepanov, 2012).

O planejamento dos antirretrovirais, fármacos usados para suprimir a carga viral, é direcionado majoritariamente a impedir que o HIV-1 conclua o ciclo de replicação e maturação. Estratégias direcionadas a inibir as enzimas TR e P, a fusão do envelope com a célula alvo, e a ligação com quimiocinas, inibidores de integrase, são alguns exemplos (Michaud, et al., 2012). A figura 6, adaptada de Engelman e Cherepanov, 2012; esquematiza o ciclo replicativo do HIV-1, a interação com fatores de restrição e sítios alvos dos antirretrovirais.

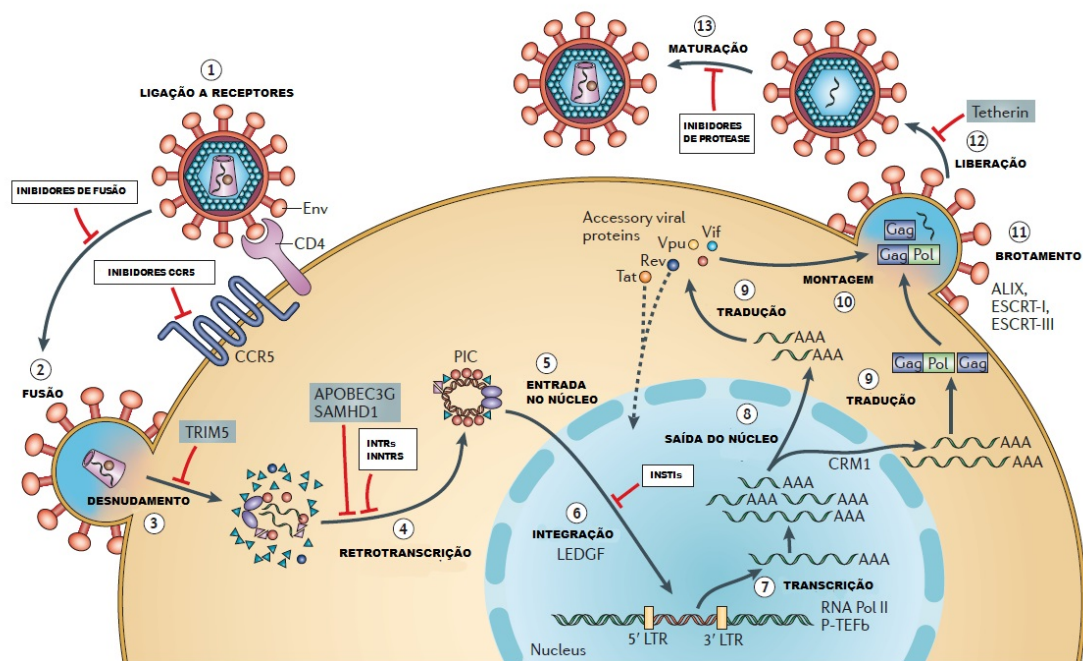


Figura 6: Esquema passo a passo do ciclo replicativo do HIV-1. Ligação e entrada do vírus (1 e 2). Desnudamento (3). Retrotranscrição e transporte para o núcleo (4 e 5). Integração (6). Síntese e Montagem (7 - 10). Escape e maturação (11 - 13). Em caixas azuis fatores de restrição celular. Em caixas brancas locais de sítios alvos de antirretrovirais. INSTI (inibidores de integrase); INTR (inibidores da TR análogos à nucleosídeos); INNTR (inibidores da TR não análogos à nucleosídeos); Outros componentes envolvidos: ESCRT (*endosomal sorting complex required for transport*); P-TEFb (fator de alongamento de transcrição positiva); LEDGF (*lens epithelium-derived growth factor*). Adaptado de Engelman e Cherepanov, 2012.

2.1.5 Patogênese

Nos primeiros dias após contato com o vírus, as células infectadas, principalmente macrófagos, migram para tecidos linfoides, onde o contato direto entre células favorece a disseminação. O HIV-1 perturba a resposta imune local e se replica acentuadamente, o que leva a uma fase aguda caracterizada por uma grande quantidade de vírus circulante, geralmente em titulações superiores a 10^6 cópias/mililitro (ml) de plasma. A resposta imune adaptativa ainda não está desenvolvida, o que aumenta o potencial infeccioso no início da doença (Sleasman e Goodenow, 2003).

Semelhante a outras patologias virais em fase aguda, a infecção pelo HIV acompanha um conjunto de manifestações clínicas, denominado Síndrome Retroviral Aguda (SRA), que se apresenta entre a primeira e terceira semana após a infecção. Entre 50% a 90% dos indivíduos infectados apresentam SRA. Os principais achados clínicos da SRA incluem febre, sudorese, adenopatia, faringite, exantema, mialgia e cefaleia. Podem ocorrer, ainda, linfadenomegalia, esplenomegalia, letargia, astenia, anorexia, depressão e sintomas digestivos. Entretanto, o comprometimento do fígado e do pâncreas é raro na SRA. Cefaleia é a manifestação neurológica mais comum, mas pode ocorrer também meningite asséptica, neurite periférica sensitiva ou motora, paralisia do nervo facial ou síndrome de Guillan-Barré (Sleasman e Goodenow, 2003; Ministério da Saúde, 2015).

Após a fase aguda da infecção, o sistema imune do hospedeiro começa a se sobressair e criar uma resposta contra a presença do vírus, fazendo com que a viremia diminua. Porém, o HIV-1 apresenta vários mecanismos de escape da resposta imune, entrando em estado de latência e se abrigando em “reservatórios” virais. Em alguns momentos, ocorrem picos de replicação viral, causando doença crônica e assintomática nos tecidos linfoides (Fanales-Belasio, et. al., 2010).

Então, a história natural da infecção pelo HIV-1 pode ser entendida como um mecanismo de “*tap and drain*” (algo como “torneira e ralo” no português). O componente *tap* equivaleria à capacidade do timo do hospedeiro em repor células CD4+, enquanto o *drain* equivaleria ao ritmo em que as células CD4+ são destruídas pelo vírus, resposta imune citotóxica e pela inflamação causada. Ao longo dos anos de doença crônica pelo HIV-1, o processo de restauração do sistema imune se torna cada vez mais enfraquecido e este encontra dificuldades em repor as células

destruídas pelo HIV-1, resultando em um contínuo déficit de células T CD4+ (Sleasman e Goodenow, 2003).

A imunodeficiência avançada, juntamente com o aparecimento de infecções oportunistas, neoplasias é definido por *AIDS*. Entre as infecções oportunistas destacam-se: pneumocistose, neurotoxoplasmose, tuberculose pulmonar atípica ou disseminada, meningite criptocócica e retinite por citomegalovirus. As neoplasias mais comuns são Sarcoma de Kaposi, linfoma não Hodgkin e câncer de colo uterino, em mulheres jovens (Daar, et al., 2001). Nessas situações, a contagem de linfócitos T CD4+ está abaixo de 200 células/milímetro cúbico (mm³), na maioria das vezes. Além dessas patologias, o HIV-1 pode causar doenças por dano direto a certos órgãos ou por processos inflamatórios, tais como miocardiopatia, nefropatia e neuropatias que podem estar presentes durante toda a evolução da infecção pelo HIV-1. Estima-se que o tempo médio que um indivíduo não tratado leva do contágio até o aparecimento da forma avançada da doença, seja de dez anos (Daar, et. al., 2001; Hutchinson, 2001). Esquema do curso clínico do HIV-1 é apresentado na figura 7.

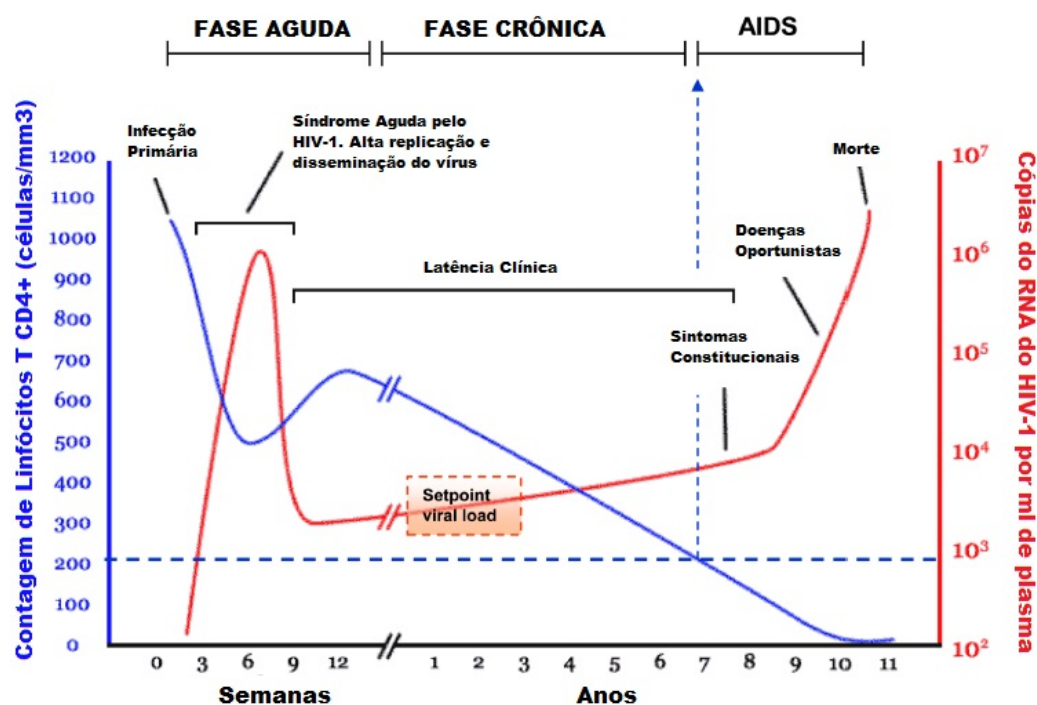


Figura 7. Curso clínico da infecção pelo HIV-1. A infecção primária é marcada por uma alta viremia (linha vermelha) acompanhada da queda do número de linfócitos T CD4+ (linha azul). Quando a resposta adaptativa se estabelece, há uma queda na produção viral, leve crescimento nas células T CD4+ levando a uma fase de estabilidade da carga viral (*setpoint viral load*). Após anos de infecção crônica, o sistema imune falha gradualmente, permitindo a replicação descontrolada do HIV-1, com consequente destruição em massa de células CD4+ levando a imunodeficiência avançada. Sem tratamento, a infecção pelo HIV-1, geralmente, leva à óbito. Adaptado à partir de An e Winkler, 2010).

2.2 Tratamento antirretroviral

Os primeiros anos após à descoberta do HIV-1 foram marcados por intensa pesquisa científica mundial a fim de se conhecer melhor a doença, e, principalmente, obter um tratamento e uma possível cura. Esses estudos resultaram no desenvolvimento dos primeiros fármacos anti-HIV. A azidotimidina, também conhecida como zidovudina (AZT), um antirretroviral análogo à timidina inibidor da TR, foi pela primeira vez testado contra o HIV-1 em 1985, tornando-se o primeiro antirretroviral (Mitsuya, et al., 1985;). Estudos clínicos demonstraram que o AZT

aumentava a sobrevida dos pacientes, malgrado não continuamente (Fischl et al., 1987; Montaner et al., 1998; Walensky et al., 2006). Com isso, houve a necessidade da busca de novos fármacos anti HIV-1 (Vella et. al., 2012).

A monoterapia antirretroviral se mostrou ineficiente contra a replicação viral, devido a facilidade na ocorrência de mutações no genoma do HIV-1, ocasionado pela TR. Como mencionado anteriormente, a mesma é sujeita a erros e não possui atividade de reparo, tendo em média um erro a cada ciclo replicativo. Como bilhões de vírus são produzidos diariamente nas células infectadas, o surgimento de uma variante que possua uma mutação de resistência ao medicamento é provável, logo esta será selecionada e se multiplicará tornando o antirretroviral ineficaz (Tang e Shafer, 2012).

Ensaios clínicos demonstraram que o tratamento antirretroviral teria maior êxito no combate ao vírus se houvesse a combinação de mais de um antirretroviral atuando em sítios alvos distintos na replicação do vírus, em comparação com a monoterapia (Hammer et al., 1996).

2.3 Terapia Antirretroviral Altamente Ativa (HAART)

Diante disso, surgiu e se consolidou o tratamento anti-HIV conhecido como Terapia Antirretroviral Altamente Ativa (do inglês *highly active antiretroviral therapy*, HAART) que se caracteriza pela combinação de três ou mais drogas antirretrovirais (Cressey e Lallemand, 2007). Com o advento desta terapia houve um decréscimo acentuado na morbidade e mortalidade por causas associadas a *AIDS* e esta doença, que outrora era considerada fatal, passou a ser crônica (Tozzi, 2010). A HAART é a principal causa do aumento da expectativa e qualidade de vida dos

pacientes (Michaud, et al. 2012). Por outro lado, cerca de 25% das pessoas que iniciam a HAART interrompem-na devido à falha no tratamento (incapacidade de suprimir a carga viral a níveis indetectáveis) e, principalmente, pela toxicidade medicamentosa e efeitos causados pelos antirretrovirais, que são frequentes e muitas vezes, severos, o que é potencializado pelo fato que os pacientes soropositivos terão de tomar a HAART por toda a vida. Os níveis de resistência adquirida e a resistência cruzada que um medicamento pode exercer no outro também são fatores importantes (Montessori, et al., 2004; Michaud, et. al. 2012).

Os principais antirretrovirais que compõe a HAART são distribuídos nas seguintes classes de acordo com o seu sítio alvo e modo de ação: Inibidores da TR análogos a nucleosídeos (INTR); inibidores da TR não análogos a nucleosídeos (INNTR); inibidores de protease (IP); Inibidores de integrase (do inglês, *integrase strand transfer inhibitor* INSTI); inibidores de fusão (IF); inibidores antagonistas do CCR5 (IAC) (Tozzi, 2010; Michaud et al., 2012; Barreiro et al., 2014).

Os INTRs foram os primeiros medicamentos antirretrovirais. Estes agentes são análogos à nucleosídeos possuindo uma hidroxila (OH) no carbono 3 da ribose, o que os distingue dos substratos, dNTPs fisiológicos (figura 8A). Eles medeiam a inibição da transcriptase reversa em seu sítio ativo, substituindo um nucleosídeo na síntese da cadeia de DNA durante a transcrição reversa. No momento em que se inserem na fita de DNA, a retrotranscrição termina, bloqueando a replicação viral (Gulnik et al., 1995;. Götte e Wainberg, 2000). AZT, Tenofovir (TDF), Lamivudina (3TC) e Abacavir (ABC) são alguns exemplos de INTRs (Ministério da Saúde, 2014).

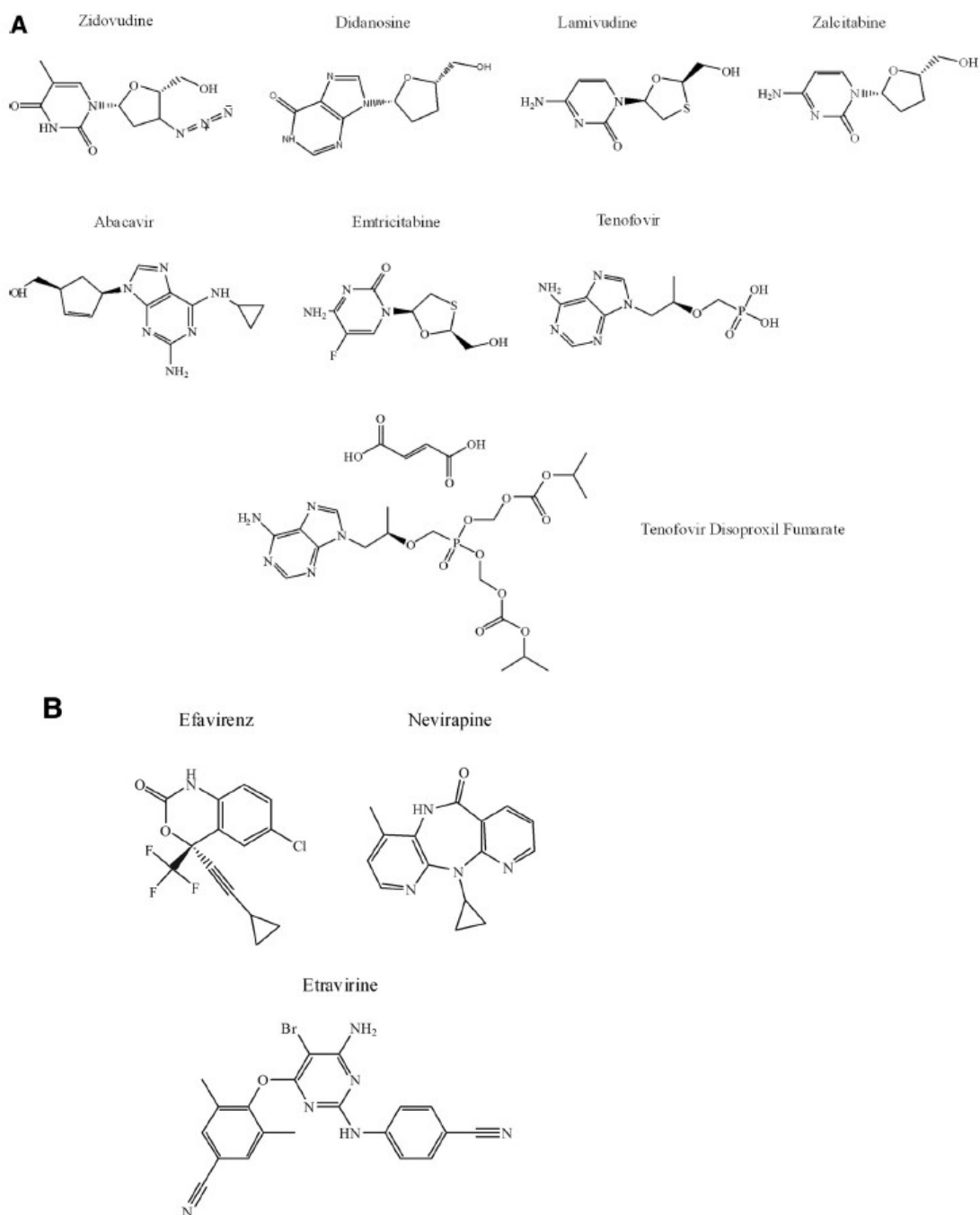


Figura 8: (A) Inibidores da transcriptase reversa análogos à nucleosídeo. Notar a analogia da estrutura molecular dessas drogas com a estrutura molecular dos nucleosídeos. (B) Estrutura molecular dos Inibidores da transcriptase reversa não análogos à nucleosídeo mais prescritos. Adaptado de Michaud et al., 2012

INNTRs inibem a TR por um mecanismo diferente em relação aos INTRs, se ligando a um sítio alostérico da TR. Ao contrário dos INTR, essa classe de molécula não requer fosforilação para serem ativadas e não se inserem como nucleosídeos

em cadeias de DNA (Michaud, et al., 2012). Sua inibição é mediada por bloqueio estereoquímico, o que impede que a droga se ligue ao seu sítio ativo (Götte e Wainberg, 2000) (figura 8B). Como exemplo de INNTRs, pode-se citar a Nevirapina (NVP) e o Efavirenz (EFV), esta última droga de estudo em que se baseia este trabalho (Ministério da Saúde, 2014).

IPs são drogas que atuam sobre a protease viral, impedindo a maturação do vírus. O HIV-1 não maduro, não é infeccioso e se torna vulnerável ao sistema imunológico. IPs atuam por bloqueio antagonista da protease e tem afinidade pela enzima tipo selvagem (Ridky e Leis, 1995; Michaud, et al., 2012). Mutações que alterem o sítio de ligação entre um determinado IP e a protease ativa pode afetar outros IPs, causando assim uma resistência cruzada (Michaud, et al., 2012). Lopinavir (LPV), Ritonavir (r) (geralmente prescritos juntos – LPV/r) e Atazanavir (ATV) são exemplos de IPs (Ministério da Saúde, 2014).

Inibidores de integrase atuam numa fase crucial do ciclo replicativo do HIV-1 que é na integração do DNA viral ao DNA da célula infectada (Michaud, et al., 2012). São drogas mais recentes, a primeira foi o Raltegravir, inserida no mercado em 2007. A demora em obter essas drogas se deve a insolubilidade da integrase e, por conseguinte, a dificuldade em decifrar sua estrutura e obter inibidores (Michaud, et al., 2012).

Outras drogas mais recentes e não menos importantes são os inibidores de entrada, que se dividem em IF que atuam impedindo a fusão do envelope viral com a membrana celular, cuja atividade é independente dos receptores de quimiocina (CCR5 e CXCR4) (Jamjian e McNicholl, 2004); e inibidores antagonistas CCR5, que por bloqueio antagonista desses receptores como mecanismo de ação, impedem que o HIV-1 utilize esses receptores a fim de entrar na célula alvo (Michaud, et al.,

2012). Como exemplos de IF e antagonistas do CCR5, pode-se citar a Enfuvirtida e o Maraviroc, respectivamente (Ministério da Saúde, 2014).

Na primeira linha de tratamento do HIV-1, as classes de antirretrovirais que são utilizadas são INTR e INNTR. (Ministério da Saúde, 2014). Na segunda linha de tratamento, já quando por algum motivo há a impossibilidade de usar INNTR, utilizam-se as classes INTR e IP (Ministério da Saúde, 2014). Recomenda-se o uso de esquema HAART composto por três drogas em combinação sendo duas INTR e a terceira droga um INNTR ou IP, mas podem ser utilizadas esquemas de 4 ou 5 antirretrovirais para determinadas circunstâncias, como, por exemplo, quando há falha virológica e a cepa viral se mostra resistente a alguns antirretrovirais (Alves et al., 2012; Ministério da Saúde, 2014).

Entretanto, há casos particulares que é preferível usar determinadas HAART. Quando o paciente apresenta nefropatia, o esquema inicial deve conter o AZT como preferência. Em gestantes, o tratamento de primeira linha deve ser dois INTR mais um IP, de preferência a combinação AZT + 3TC + LPV/r. Critérios particulares são estabelecidos também para os casos de Tuberculose e Hepatite B (Ministério da Saúde, 2014).

Os antirretrovirais que compõe as classes INSTI, IAC e IF, no Brasil, fazem parte do tratamento de terceira linha, que é utilizada em pacientes que estão em falha virológica e apresentam resistência, pelo menos, a um medicamento de cada uma das três classes, INTR, INNTR e IP, confirmada em genotipagem nos últimos doze meses (Ministério da Saúde, 2014).

No Brasil, são distribuídos gratuitamente e de forma universal para a população soropositiva cerca de dezenove formulações diferentes desde 1996 (Ministério da Saúde, 2014).

As diretrizes estabelecidas pelo Ministério da Saúde do Brasil recomendam que devem ser estimulada o início da HAART em PVHA a partir do diagnóstico a fim de se evitar a transmissão do HIV-1. Os pacientes são acompanhados de dois a três meses e além das dosagens laboratoriais de rotina para portadores HIV-1, são avaliadas as dosagens de carga viral (CV) e contagem de células T CD4+ (Ministério da Saúde, 2014).

2.3.1 Efeitos adversos à HAART

A HAART controlou a infecção pelo HIV-1 e trouxe um aumento considerável na qualidade de vida das PVHA, no entanto, visto que é uma terapia que terá duração por toda a vida dos pacientes, trouxe uma variedade de efeitos adversos (AEs), entre leves e efeitos muito severos, alguns podem ser extremamente prejudiciais à saúde e outros que podem levar ao risco de morte (Montessori, et al.; 2004; Ministério da Saúde, 2014).

INTRs pode causar toxicidade mitocondrial, levando à acidose metabólica, esteatose hepática, dislipidemias, e, a longo prazo, lipodistrofia; efeitos que podem elevar o risco de doenças coronarianas e cardiovasculares; e insuficiência hepática (Montessori, et al.; 2004; Ministério da Saúde, 2014). AZT é muito associado a anemias, miopatias, leucopenias e depressão de CD4+. O TDF pode causar nefropatias e deficiência na reabsorção tubular (Montessori, et al., 2004). IPs também podem causar síndrome metabólica, intolerância à glicose, dislipidemias e

lipodistrofias, além de efeitos gastrointestinais (Montessori, et al., 2004; Ministério da Saúde, 2014). Atazanavir está associado à icterícia; Indinavir pode causar Nefrolitíase; outros IPs e INNTRs estão associados a hepatotoxicidade (Montessori, et al., 2004)

INNTR é classe de drogas mais associada ao Rash Cutâneo, sendo a Nevirapina (NVP) maior causadora do que o EFV (Chantarangsu et al., 2011; Montessori, et al., 2004). O EFV está associado à toxicidade ao sistema nervoso, causando diversos efeitos neuropsiquiátricos, tais como depressão, tonturas, alucinações, sonhos anormais, hiperidrose entre outros (Montessori, et al., 2004; Sánchez Martín, et al., 2013), e ainda não se sabe o impacto desta droga sobre efeitos cognitivos irreversíveis em longo prazo (Decloedt e Maartens, 2013).

Efeitos osteopatológicos, tais como osteonecrose, osteoporose, rigidez óssea, artralgias, e osteopenias são AEs causados por diversos antirretrovirais (INTRs, INNTRs e IPs por exemplo), mas também podem ser causados pela infecção avançada ao HIV-1. A etiologia dos efeitos osteopatológicos é multifatorial e as causas em PVHA ainda são pouco esclarecidas (Montessori, et al., 2004).

2.4 Terapia antirretroviral com Efavirenz

O EFV é um INNTR de primeira linha mundialmente prescrito com uma importante eficácia comprovada no combate ao HIV-1. No Brasil é ministrado no esquema HAART de primeira linha combinado a dois INTR, sendo a droga INNTR de preferência em relação à NVP (Ministério da Saúde, 2014). Atualmente é ministrado com o AZT mais 3TC (os dois presentes no medicamento Biovir) ou com os antirretrovirais TDF mais 3TC (Ministério da Saúde, 2014); mas as últimas

diretrizes do Ministério Saúde do Brasil recomendam que a combinação com TDF e 3TC deva ser a preferível no tratamento de primeira linha (Ministério da Saúde, 2014). O EFV ministrado sozinho induz rapidamente resistência viral no HIV-1.

EFV é comumente recomendado por várias diretrizes internacionais em combinação com INTRs (Sánchez Martín, et. al., 2013). Possui boa farmacocinética, tendo meia-vida elevada, entre 44-55 horas, permitindo uma administração diária o que, na teoria, facilita a adesão à terapia (Sánchez Martín, et. al., 2013). É um fármaco neuroativo, pois tem boa acessibilidade ao sistema nervoso central, o que ajuda a reduzir danos, em um determinado nível, decorrentes do HIV-1 e pode prevenir a demência associada ao HIV-1 e outras desordens psiquiátricas (Von Giensen et. al., 2002).

EFV tem nomenclatura definida pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) (4S)-6-Cloro-4-(2-ciclopropiletenil)-4-(trifluorometil)-1H,3,1-benzoxazin-2-ona, e fórmula molecular $C_{14}H_9ClF_3NO_2$ (Pubchem Database, 2015), é utilizado como dosagem padrão 600 miligramas (mg) ao dia (Marzolini et al., 2001) e já se encontra em sua forma ativa (Europeu Medicines Agency, 2015).

2.4.1 Farmacocinética do Efavirenz

Os processos que regulam a absorção da droga, tais como o efeito de primeira passagem intestinal-hepática, distribuição (sistêmica e tecidual), metabolismo e eliminação são os principais determinantes das concentrações plasmáticas e teciduais de drogas. O EFV, assim como os outros antirretrovirais, é administrado por via oral e absorvido através de células epiteliais intestinais (Michaud, et al., 2012). Além disso, enterócitos contêm grandes quantidades das

enzimas que metabolizam o EFV (Boffito et al., 2003). A fração de absorção da droga a partir do intestino passa para o fígado através das veias do mesentério e, em seguida, pela veia porta. Em hepatócitos, a droga é mais uma vez sujeita a processos de transporte e de metabolismo antes de atingir a circulação sistêmica. Juntos, estes processos definem o efeito da primeira passagem hepática-intestinal que determina a biodisponibilidade sistêmica da droga (Michaud, et al., 2012).

2.4.1.1 Absorção

EFV é um material cristalino, não higroscópico, lipofílico (Maurin, et. al., 2002), sendo praticamente insolúvel em água, solubilidade <10 microgramas (ug) / mL, pH 8,3 a 25°C). É um fármaco de classe II, baixa solubilidade e permeabilidade elevada, o que faz com que passe facilmente a barreira hematoencefálica. Sua biodisponibilidade oral é de 40 a 45% (Kasim, et. al., 2004). O período de tempo para se atingir a concentração plasmática máxima varia de 3 a 5 horas, a concentração plasmática no estado estacionário (do inglês *steady-state* SS), sendo concentração máxima *steady-state* (C^{ss}_{max}) e mínima (C^{ss}_{min}) são proporcionais a dosagem da droga ministrada ao dia (Usach et. al., 2013), e podem variar de acordo com o perfil metabólico do paciente (Sánchez Martín, et al., 2013). Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs) em genes que codificam enzimas metabolizadoras podem afetar diretamente as concentrações plasmáticas SS do EFV. A faixa terapêutica do EFV é de 1 a 4 ug/ml (Sánchez Martín, et. al., 2013), pacientes que tem um SS na C^{ss}_{min} de 4 ug/ml têm um risco maior de ter efeitos adversos neuropsiquiátricos (Marzolini et al., 2001; Puzantian et al., 2002).

Embora os aumentos na SS sejam proporcionais à dosagem da droga, estes aumentos diminuem para uma dose de 1600 mg/dia, o que sugere uma absorção reduzida em doses mais elevadas (Rakhmanina e Van den Anker, 2010); Europe Medicines Agency, 2015). A literatura afirma que as diferenças nas concentrações plasmáticas entre homens e mulheres são sutis, não sendo necessários ajustes de doses (Usach et. al., 2013).

2.4.1.2 Distribuição

Após o metabolismo de primeira passagem, o EFV é distribuído para diversos tecidos. EFV está altamente ligado a proteínas plasmáticas (entre 99,5 – 99,75%), predominantemente à albumina sérica humana; e sua concentração no líquido cefalorraquidiano (LCR) é de 0,26 - 1,19% da concentração plasmática correspondente (Avery et al., 2013). As concentrações de EFV não ligados no plasma e no LCR são semelhantes, apesar da grande diferença das concentrações de EFV totais no LCR e no plasma, o que sugere que o EFV ultrapassa a barreira hematoencefálica por difusão simples em vez da passagem mediada por transportadores de influxo e efluxo (Avery et. al., 2013). No entanto, há outros estudos que sugerem a interação de transportadores na resposta ao EFV, e que a presença da droga altera a expressão dos mesmos (Sánchez Martín, et al., 2013; Kharasch, et. al., 2012). Porém, mais estudos sobre a extensão da contribuição de polimorfismos que codificam para transportadores e a exposição do SNC à antirretrovirais precisam ser conduzidos (Decloedt et. al., 2015)

2.4.1.3 Metabolismo

O EFV sofre o metabolismo de primeira passagem hepática intestinal antes de atingir os tecidos alvos. No metabolismo de fase I, a principal enzima que metaboliza o EFV é a CYP2B6 (Wang e Tompkins, 2008), uma monooxigenase pertencente à superfamília do citocromo P450 (CYP) que adiciona uma radical hidroxila (OH) à molécula, o que aumenta a sua polaridade. Esta grande superfamília de hemoproteínas atua no metabolismo de diversos compostos, transformando compostos lipossolúveis, tais como o EFV, em compostos hidrossolúveis a fim de serem eliminados pelo organismo (Michaud, et. al., 2012). A isoforma CYP2B6 é responsável por 90% do metabólito inativo 8-hidroxi-EFV (Ward, et. al., 2003), que segundo ensaios em células neuronais é considerado o metabólito mais tóxico (Decloedt e Maartens, 2013). A Isoforma CYP2A6 é a segunda enzima mais importante e é responsável pela formação do 7-hidroxi-EFV, (Julia di Iulio et al., 2009; Arab-Alameddine et al., 2009). CYP3A4 é outra isoenzima acessória responsável pelo metabolismo do EFV, sendo mais expressa no fígado. CYP3A4 é responsável por cerca de 30 a 50% de todo o metabolismo do citocromo P450 hepático (Michaud, et. al., 2012). Julia di Iulio, et. al., 2009 e Arab-Alameddine, et al., 2009 demonstraram que a atividade das isoenzimas CYP2A6 e CYP3A4 é acentuada quando a isoenzima CYP2B6 está prejudicada a fim de evitar a acumulação da droga (Julia di Iulio, et. al., 2009 Arab-Alameddine, et al., 2009). Outras isoenzimas envolvidas no metabolismo do EFV são CYP1A2 e CYP3A5 (Julia di Iulio, et. al., 2009 Arab-Alameddine, et. al., 2009; Swart et. al., 2013).

Já foi demonstrado por diversos autores que polimorfismos em genes que codificam para metabolizadores, e que levem a uma perda ou diminuição da função

das enzimas podem elevar a concentração plasmática de EFV, aumentando a exposição do organismo e o risco de toxicidade (Haas et al., 2005;. Car. et. al., 2010;. Chen et. al., 2010; Julia di Iulio, et. al., 2009 Arab-Alameddine, et. al., 2009; Swart et al., 2013; Sánchez Martín et al., 2013). Outros estudos associaram o aumento da exposição à droga com o risco aumentado de ocorrer efeitos adversos neuropsiquiátricos (Rotger et al., 2005; Sánchez Martín et al., 2013).

Após o metabolismo de primeira passagem, a parte da droga não metabolizada é distribuída e sua concentração começa a aumentar nos tecidos e no plasma. Os metabólitos entram em metabolismo de fase II, mas podem ser, também, distribuídos e encontrados em outros locais, como o SNC, por exemplo (Decloedt e Maartens, 2013).

No metabolismo de fase II do EFV a enzima principal é UGT2B7 (Kassahun et al., 2007; Be' langer et al., 2009), uma uridina difosfato glicuronosil transferase que efetua a biotransformação dos metabólitos do EFV, oriundo da fase I, em n-glicuronídeo-efavirenz (Michaud et al., 2012; Barreiro et al., 2014). Este metabólito é mais hidrossolúvel do que os metabólitos de fase I e, nesta forma, o EFV é mais facilmente excretado na urina e em outros fluidos corpóreos (Kassahun et. al., 2007; Be' langer et al., 2009). Polimorfismos genéticos em *UGT2B7* podem alterar a depuração do EFV e sua concentração plasmática (Kwara et al., 2009).

Apesar da maior quantidade do metabolismo do EFV ocorrer no fígado, outros locais, tais como cérebro, intestino, rim, linfócitos, endométrio e pele expressam metabolizadores e contribuem para o metabolismo do EFV (Ding e Kaminsky, 2003; Michaud et al., 2012), além disso o metabolismo local influencia significativamente a quantidade da droga disponível para a ação intracelular (Michaud, et. al., 2012). Tanto o metabolismo de fase I como o metabolismo de fase II do EFV ocorrem no

interior das células, portanto os metabólitos precisam do transporte ativo para serem excretados. A expressão diferencial de proteínas metabolizadoras ou envolvidas no transporte do EFV pode levar a acumulação da droga em um tecido particular em detrimento de outro (Michaud, et. al., 2012). Vias metabólicas do EFV são apresentadas na figura 9.

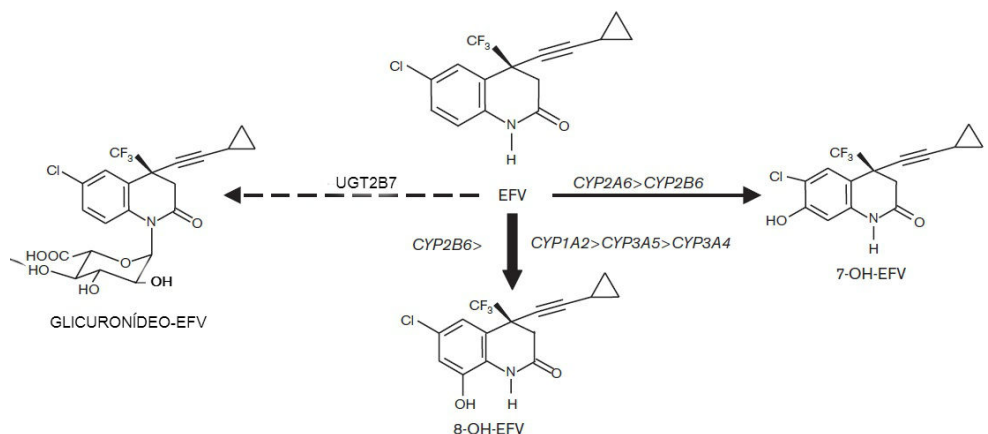


FIGURA 9: Vias metabólicas do Efavirenz. Adaptado de Julia di Iulio, et al., 2009

O EFV é indutor de CYP2B6, CYP3A4 e CYP2A6, sendo indutor próprio metabolismo (Zhu, et al., 2009; Rakhmanina e Van den Anker, 2010), e pode ainda induzir CYP2C9 e CYP2C19 (Rakhmanina e Van den Anker, 2010; Europe Medicines Agency, 2015). Antirretrovirais ministrados em esquema contendo EFV, que induzem isoenzimas envolvidas no metabolismo do mesmo podem diminuir a sua concentração plasmática, assim como a coadministração de EFV com substratos de CYP3A4, tais como IP (Michaud, et. al., 2012), podem alterar a concentração plasmática dessas drogas (Rakhmanina e Van den Anker, 2010). As concentrações plasmáticas de Atazanavir, Fosamprenavir, Indinavir, Lopinavir - em combinação de dose fixa com Ritonavir (RTV) - Nelfinavir e Saquinavir quando coadministrados com EFV podem estar diminuídos (Rakhmanina e Van den Anker, 2010).

Medicamentos e alimentos podem interagir com o metabolismo como indutores e inibidores, tais como o suco de toranja que inibe CYP3A4 e CYP2B6 (Rakhmanina e Van den Anker, 2010; Europe Medicines Agency, 2015), e o antimicrobiano Rifampicina, muito utilizado no Brasil no tratamento da tuberculose em PVHA (Ministério da Saúde, 2014), que induz CYP3A4 e CYP2B6 e diminui as concentrações do EFV sendo aconselhável um ajuste de dose (Rakhmanina e Van den Anker, 2010; Europe Medicines Agency, 2015).

2.4.1.4 Eliminação

Aproximadamente de 14 a 34% de EFV numa dose marcada com radioisótopo foi excretada na urina (cerca de 1% na sua forma inalterada) sob a forma de metabólitos, e entre 16 a 61% foi excretado nas fezes como fármaco inalterado (Usach et al., 2013). Existe uma variação na depuração do EFV significativa entre as etnias, mas esta se deve, principalmente, à frequência em determinadas populações de SNPs em genes associados a alterações no metabolismo da droga (Usach et. al., 2013).

2.4.2 Farmacodinâmica do Efavirenz

O EFV é um inibidor não competitivo da TR do HIV-1, mas não inibe significativamente a TR do HIV-2 e nem as DNA polimerases, α , β , γ e δ (Europe Medicines Agency, 2015; Usach, et., al., 2013)

O principal mecanismo de resistência viral ou suscetibilidade reduzida ao EFV está relacionado a mutações na TR, embora ainda seja pouco esclarecida. A

mutação K103N é a mais característica causadora de resistência à droga (Bachelier, et. al., 2000). Outras afetam aminoácidos nas posições 100, 106, 108, 181, 188, 190 e 225 (Usach et. al., 2013). Como já mencionado, o EFV não pode ser usado em monoterapia, pois vírus resistentes emergem rapidamente (Usach et. al., 2013; Europe Medicines Agency, 2015).

A resistência cruzada entre EFV e INTRs é considerada baixa, visto que as drogas além de se ligarem em locais diferentes têm diferentes mecanismos de ação (Usach et. al., 2013). Em outras interações importantes, a exposição ao EFV pode está aumentada quando administrado em concomitância com RTV, pois o mesmo inibe as enzimas CYP2B6 e CYP3A4 (Europe Medicines Agency, 2015) essenciais metabolizadores do EFV (Tozzi, 2010; Michaud, et. al., 2012; Barreiro, et. al., 2014).

2.4.3 Farmacogenética relacionada com Efavirenz

Vários fatores do hospedeiro influenciam a resposta terapêutica, bem como as propriedades químicas e seu mecanismo. Sexo, interações medicamentosas e outras patologias, por exemplo, podem influenciar a exposição à droga, mas é a variabilidade genética a principal responsável pela variabilidade nas respostas terapêutica as drogas (Tozzi, 2010; Michaud, et. al., 2012; Barreiro et. al., 2014) .

No caso do EFV, polimorfismos genéticos em genes envolvidos na sua farmacocinética que levam à exposição alterada da droga no organismo, podem desencadear fenótipos tais como metabolizadores lentos, normais, rápidos e ultrarrápidos (Haas et al., 2005; Carr et al., 2010; Chen et al., 2010; Julia di Iulio et al., 2009; Arab-Alameddine et al., 2009; Kwara et al., 2009; Swart et al., 2013; Sánchez Martín et al., 2013). Em outra linha, polimorfismos em genes que codificam

para transportadores podem alterar a distribuição e eliminação da droga e levar a um fenótipo de toxicidade ou falha terapêutica (Swart, et. al., 2013; Sánchez Martín, et. al., 2013). Alguns desses já foram descritos nas populações caucasiana, africana e asiática como associados a alterações na exposição à droga (Ribaud et al., 2010; Swart et al., 2012; Swart et al., 2013; Sánchez Martín et al., 2013). Acredita-se que tais polimorfismos que alteram a exposição à droga e sua resposta podem estar associados a AEs (Swart, et. al., 2013; Sarfo et al., 2014; Sánchez Martín, et. al., 2013). EFV tem uma janela terapêutica muito estreita, entre 1 e 4ug/ml (Barreiro, et., al., 2014). O risco de falha virológica aumenta abaixo deste limiar, e inversamente, efeitos adversos neuropsiquiátricos ao EFV aumentam acima de 4ug/ml (Marzolini et al., 2001; Gallego et al., 2004). Destarte, ficando evidenciada a importância de estudar fatores genéticos que alteram esses limiares.

2.4.3.1 Polimorfismos genéticos associados ao aumento na exposição ao Efavirenz

O gene *CYP2B6* está localizado no braço longo do cromossomo 19 (19q13.2) (Kent et al., 2002), codifica para a principal enzima metabolizadora do EFV, e nele foi descrito o polimorfismo na posição 516 G>T (haplótipo *CYP2B6*6*) (rs3745274) que leva a expressão de uma proteína com função diminuída, e já foi associada por diversos autores ao metabolismo prejudicado do EFV e aumento das concentrações plasmáticas da droga (Gatanaga et al., 2007; Arab-Alameddine, et. al., 2009; Ribaud et al., 2010; Swart et al., 2013; Sarfo, et al.; 2014; Sánchez Martín, et al., 2013). Este polimorfismo também é associado à alteração na exposição à NVP e à hepatotoxicidade causada por INNTR (Rotger, et al., 2005), o que demonstra sua importância para esta classe de antirretrovirais.

Receptor de Androstano Constitutivo (do inglês Constitutive Androstane Receptor, CAR), é um fator de transcrição codificado pelo gene *NR1I3* e atua como sensores de xenobióticos, aumentando a expressão de enzimas metabolizadoras de fármacos (Wang e Lecluyse, 2003; Chen et al., 2012). CAR regula a expressão dos principais metabolizadores do EFV, CYP2B6, CYP2A6, CYP3A4 e UGT2B7 (Shelby et al., 2006; Chang et al., 2003; Wortham et al., 2007; Faucette et al., 2007; Wyen et al., 2011; Sarfo et al., 2014). O genótipo CAR C/C (rs2307424), foi associado a aumento nas concentrações plasmáticas do EFV e a descontinuação do tratamento com EFV de forma precoce, este, na maioria dos pacientes, devido a efeitos adversos neuropsiquiátricos. (Wyen, et. al., 2011).

ABCB1 (*MDR1*) codifica para a glicoproteína de permeabilidade (p-gp) um transportador de efluxo de compostos orgânicos e xenobióticos expresso em vários locais no organismo tais como, ovário, testículo e linfócitos, mas com um acentuado nível de expressão no fígado, rim, intestino delgado e cérebro (Michaud, et. al., 2012). Esta proteína faz parte da superfamília ABC, proteínas que participam da absorção e excreção de vários fármacos. Atuam como uma barreira, limitando a distribuição de medicamentos por extrusão em certos tecidos, como exemplo a barreira hematoencefálica, e contra a acumulação de drogas em determinados sítios, como em leucócitos (Michaud, et al., 2012).

Ainda, não está claro se EFV é um substrato da p-gp ou se existe algum tipo de interação farmacodinâmica (Marzolini et. al., 2004), todavia a combinação de *ABCB1* na posição 2677 G> T e *CYP2B6* 516G> T está associada a um aumento nas concentrações plasmáticas do EFV (Winzer, et. al., 2003). Assim como também a variante *ABCB1* 4036 A>G, rs3842, aumenta a exposição a este antirretroviral (Brumme et al., 2003)

2.4.3.2 Polimorfismos genéticos associados à diminuição na exposição ao Efavirenz

A mudança 3435C> T no éxon 26 no gene *ABCB1* (rs1045642) altera os níveis de expressão de p-gp no intestino delgado e influencia a absorção de substratos administrados por via oral. O alelo T reduz os níveis plasmáticos de EFV, com os genótipos TT, CT causando percentuais de 30 e 50% de exposição à droga, respectivamente (Elens et al., 2012). Apesar de todos esses dados, no entanto, o efeito da variabilidade genética p-gp em resposta EFV ou toxicidade permanece controverso, pois vários estudos não encontraram qualquer associação (Elens, et. al., 2012).

2.4.3.3 Polimorfismos genéticos associados a efeitos adversos do Efavirenz

O polimorfismo *MRP1* 816 G>A, rs45560437, do gene *ABCC1* foi associado a irritabilidade, fadiga, e rigidez muscular em pacientes que faziam tratamento com EFV em análise univariada, e multivariada ajustando para $C^{ss}(max)$ (Sánchez Martín, et. al., 2013). No mesmo estudo, outro polimorfismo genético que codifica para transportador de efluxo, *ABCG2* (*BCRP*), na posição – 421C>A (rs2231142) foi associado de forma significativa com sonhos anormais em pacientes que faziam terapia com EFV nas mesmas circunstâncias que o polimorfismo citado anteriormente (Sánchez Martín, et al., 2013). De acordo Sánchez Martín, et. al., 2013, O transportador MRP1 é abundante na barreira hematoencefálica, de tal modo que polimorfismos genéticos podem levar a uma diminuição na expressão e aumento nas concentrações EFV no fluido cerebrospinal, e, por conseguinte, podem

ser associados à presença ou intensidade de efeitos adversos neuropsiquiátricos (Sánchez Martín, et. al., 2013), o mesmo relata que apesar de experimentos *in vitro* concluírem que EFV não é substrato desse transportador, um aumento da sua expressão é observada em células intestinais após semanas de exposição ao EFV. Assim são necessários mais estudos sobre fatores fisiológicos e expressão gênica a fim de determinar o mecanismo molecular exato destas interações (Sánchez Martín, et. al., 2013).

2.4.3.4 Outros polimorfismos genéticos que podem está associado à efeitos adversos relacionados ao Efavirenz

Receptor X pregnano (do inglês Pregnane X Receptor, PXR), é um fator de transcrição codificado pelo gene *NR1I2* com função semelhante à proteína CAR atuando na regulação da expressão das enzimas presentes no metabolismo de fase I e fase II de xenobióticos, inclusive do EFV (Wyen, et. al., 2011; Swart et. al. 2012). Influencia também a expressão do gene *ABCB1* e de outros genes que codificam para transportadores (D'Avolio et. al., 2014) O polimorfismo 44477 T>C, rs1523130, localizado na região 5' UTR (1000genomes, 2015), apesar de não ter sido associado com efeitos no metabolismo do EFV e consequente aumento de toxicidade, é um plausível candidato pois pode alterar a expressão da proteína PXR, e consequentemente, toda a sua função de regular a expressão de outros genes envolvidos no metabolismo. Os genótipos TC e CC foram associados ao aumento das concentrações plasmáticas do Ritonavir (D'Avolio et. al., 2014).

O gene *ABCC2* codifica a proteína de resistência a múltiplas drogas tipo 2 (MRP2) que está envolvida no transporte de xenobióticos. Polimorfismos genéticos

neste gene já foram descritos como associados à ocorrência de efeitos adversos causados por antirretrovirais (Barreiro, et. al., 2014).

O polimorfismo rs2125739 (*ABCC10*), gene que codifica para a proteína de resistência a múltiplas drogas tipo 7 (MRP7), que é um transportador de moléculas lipofílicas para dentro e fora da célula envolvido na desintoxicação celular, foi associado a aumento das concentrações plasmáticas de Nevirapina na população Caucasiana, antirretroviral da mesma classe do EFV e com mecanismo de ação e metabolismo parecidos (Liptrott et al., 2012).

2.4.4 Efeitos Neuropsiquiátricos causados pelo Efavirenz e possíveis mecanismos

A administração de EFV está associada à toxicidade ao SNC e ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos em cerca de 68% dos pacientes (Decloedt, et. al., 2013). Esta toxicidade é responsável por 13% do abandono do tratamento nas duas primeiras semanas (Blanch et al., 2001). Os efeitos neuropsiquiátricos mais frequentes ao EFV são: cefaleia, tonturas, insônias, pesadelos, sonhos anormais, sonolência, irritabilidade, ansiedade, parestesias, tremor, hiperhidrose (Michaud et al., 2012; Abers et al., 2014). A maioria dos estudos relata que estes sintomas permanecem entre 2 a 4 semanas e depois desaparecem (Sutterlin et al., 2010; Michaud et al., 2012), mas estudos recentes mostram que tais efeitos podem durar em longo prazo (Sánchez Martín et al., 2013). Alguns pacientes podem desenvolver efeitos mais graves como depressão, psicose, mania e pensamentos suicidas (Michaud, et. al., 2012).

Em um estudo, pacientes que tomaram EFV por três anos tiveram níveis aumentados da frequência de sonhos anormais e picos de ansiedade, apesar de não terem tido decréscimo de desempenho neuropsicológico além da linha de base (Clifford, et al., 2009). Em outro estudo pacientes que tomavam EFV por mais de um ano, 47% estavam com déficit cognitivo (Ciccarelli et al., 2011).

A expressão alterada dos metabolizadores do EFV no cérebro pode influenciar as concentrações intratecduais e assim afetar os efeitos terapêuticos e tóxicos (Michaud, et al., 2012). Vale ressaltar que o EFV ultrapassa a barreira hematoencefálica por difusão simples. Mathiesen et al., relataram uma melhora significativa dos sintomas em paciente após um ajuste de dose. (Mathiesen et al. 2006). Já Ribaud et. al., descrevem o contrário, que a diminuição na dose padrão poderia levar a falha terapêutica (Ribaud, et. al., 2010).

A terapia com EFV não é aconselhada em mulheres grávidas no primeiro trimestre da gestação, pois o mesmo é associado à ocorrência de defeitos no tubo neural (DTN) do concepto e Síndrome de Dandy-Walker (Abers, et al., 2014). Vários relatórios sobre DTN em recém nascidos expostos a EFV no período pré-natal ou pré-concepto já foram descritos (Abers, et al., 2014).

Dois estudos avaliaram o efeito direto de EFV em culturas de neurônios de rato (Robertson et al., 2012; Tovar-y-Romo et al., 2012). No primeiro, foi avaliado danos neuronais de 15 antirretrovirais, incluindo EFV. Neurotoxicidade máxima foi vista com Abacavir, Atazanavir, NVP, Etravirina e EFV (Robertson, et. al., 2012). No segundo estudo, foi estudado o efeito de EFV e os seus metabólitos sobre a homeostase do cálcio, morfologia da espinha dendrítica e sobrevivência de culturas neuronais de rato (Tovar-y-Romo, et. al., 2012). O metabólito 8-hidroxi-efavirenz provocou uma perda de integridade da membrana e liberação de cálcio. EFV e seus

outros metabolitos também induziram lesão neuronal, mas de uma forma dependente de dose. 8-hidroxi-efavirenz se mostrou 10 vezes mais tóxico (Tovar-y-Romo, et. al., 2012).

A literatura estabelece vários mecanismos possíveis para explicar a neurotoxicidade do EFV. Primeiramente, EFV e seus metabólitos podem causar danos neuronais diretos por perturbar a homeostase do cálcio (Tovar-y-Romo, et. al., 2012). Em segundo lugar, as concentrações de creatina quinase (CK), foram significativamente reduzidas no córtex e cerebelo de ratos tratados com EFV (Streck et al., 2008). Uma diminuição na CK tem sido associada com doenças neurodegenerativas (Zhang, et. al., 2011). Em terceiro lugar, o EFV provoca uma mitocondriopatia, dependente da sua concentração, em células hepáticas humanas por inibir o complexo I da cadeia respiratória (Blas-Garcia et al., 2010). As mitocôndrias desempenham um papel crucial na sobrevivência celular e um declínio na função mitocondrial tem sido associado com o envelhecimento e demência (Swerdlow et al., 2011). O EFV reduz a atividade complexo IV da cadeia respiratória nas mitocôndrias em cérebro de ratos (Streck, et. al., 2011). No entanto, a neurotoxicidade não estava relacionada a danos mitocondriais ou morte celular em neurônios de ratos (Streck, et. al., 2011; Robertson, et. al., 2012). Em quarto, os ratos tratados com EFV exibiam déficits de memória e estresse, os quais foram associados com o aumento de citocinas pró-inflamatórias interleucina-1 beta (IL-1b) e fator de necrose tumoral-alfa (TNF-a) (O'Mahony et al., 2005). As citocinas e os seus caminhos de sinalização afetam o metabolismo de vários neurotransmissores, como a serotonina, a dopamina e o glutamato, alterando a sua síntese, liberação e recaptação (Miller, et. al., 2013). Finalmente, o EFV é citotóxico seletivo contra as

células cancerosas. O efeito antineoplásico de EFV é possivelmente mediado via sinalização canabinóide (Hecht et al., 2013).

3. Objetivos

3.1 Objetivo geral

Avaliar se há associação de polimorfismos em genes envolvidos nas vias da farmacocinética ADME (absorção, distribuição, metabolização e eliminação) com efeitos neuropsiquiátricos relacionados ao EFV em indivíduos portadores de HIV-1.

3.2 Objetivos específicos

- Determinar a frequência dos pacientes que tiveram efeitos neuropsiquiátricos relacionados ao EFV na coorte em estudo;
- Estratificar e comparar os grupos pelo esquema HAART contendo EFV e o tempo de início dos efeitos neuropsiquiátricos;
- Avaliar diferenças significativas na distribuição dos efeitos neuropsiquiátricos mais frequentes ao longo do tempo, de acordo com o sexo e o esquema HAART contendo EFV.
- Avaliar se há associação dos polimorfismos *CYP2B6* 516 G>T (rs3745274); *NR1I3* 540 G>A (rs2307424); *NR1/2* 44477 T>C (rs1523130); *ABCB1* A>G (rs2235048); *ABCB1* 4036 T>C (rs3842); *ABCB1* 3435 G>A (rs1045642); *ABCC1* 3'-UTR C>T (rs3743527); *ABCC1* 3'-UTR T>C (rs212091); *ABCC2*

(rs2273697); *ABCC10* (rs2125739) com efeitos neuropsiquiátricos relacionados ao EFV encontrados na coorte estudada;

- Fazer uma análise multivariada ajustando para o sexo e pelo esquema HAART contendo EFV;
- Elaborar um modelo de Regressão Logística que possa prever a probabilidade de ocorrência de efeitos neuropsiquiátricos na terapia com EFV

4. Material e métodos

Inicialmente, 496 pacientes HIV-1 positivos, sob HAART com idade superior a 18 anos acompanhados no Instituto Materno Infantil Professor Fernando Figueira – IMIP (Recife, Pernambuco) foram avaliados. Os pacientes assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (apêndice), onde aceitavam participar da pesquisa. As amostras de sangue foram coletadas em tubos contendo anticoagulante e foram levadas ao setor de Biologia Molecular do Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA) – UFPE onde foram processadas: as amostras foram centrifugadas sendo feita a extração de DNA dos leucócitos.

4.1 Extração de DNA

A extração de DNA nuclear das 496 amostras foi feita utilizando o *Genomic Prep Blood DNA isolation kit* (método *salting out*), de acordo com as instruções do fabricante (*Promega*).

4.2 Análises dos prontuários

Foi feita uma análise retrospectiva dos prontuários dos 496 pacientes, onde foram obtidas as informações registradas desde o início da terapia de cada paciente até o registro médico em dezembro de 2014. Todas as informações das consultas trimestrais nesse período foram obtidas e cada evento foi datado: data do diagnóstico de HIV-1; esquemas HAART ministrados; tempo de terapia com EFV; data da retirada do EFV do esquema e motivo; efeitos adversos neuropsiquiátricos; dosagem de carga viral em número de cópias do vírus/ml e contagem de células T CD4+ (células/mm³) durante o tempo de terapia com EFV; diagnóstico de doenças oportunistas; diagnóstico de doenças neurológicas; diagnósticos de falha virológica; sorologia para hepatites; informações sobre co-medicação e período de tratamentos secundários; sorologia e tratamento para tuberculose. Foi criado um banco de dados com essas informações.

A coleta de informações e análise dos prontuários foi feita sob consenso do IMIP e supervisão da equipe médica responsável pelo acompanhamento dos pacientes HIV-1 positivos.

4.3 Desenho do estudo e caracterização dos grupos

O tipo de estudo escolhido foi o de caso-controle, cujas características são de estudo observacional e retrospectivo, que visa identificar fatores que podem estar associados à possibilidade de ocorrência de um determinado evento, comparando-se dois grupos, sendo um formado pelos indivíduos que apresentaram o evento e outro formado pelos indivíduos que não apresentaram (Schulz e Grimes, 2002).

Após a análise dos prontuários e o conhecimento do perfil da nossa coorte, dentro do grupo de 496 pacientes foi selecionado um grupo de pacientes que fizeram, em algum momento durante o período abordado, terapia com EFV, e de acordo com os efeitos neuropsiquiátricos relacionados ao EFV, estes pacientes foram caracterizados nos seguintes grupos, a saber:

- Grupo Caso: pacientes HIV-positivos, maiores de 18 anos, sob HAART, com infecção controlada, que, quando utilizaram esquema contendo EFV, tiveram efeitos adversos neuropsiquiátricos.
- Grupo Controle: pacientes HIV-positivos, maiores de 18 anos, sob HAART, com infecção controlada, que, quando utilizaram esquema contendo EFV, não relataram efeitos neuropsiquiátricos.

Dos 496 pacientes analisados, 224 foram submetidos à terapia contendo EFV, e foram pré-selecionados. O grupo ainda foi estratificado pela HAART contendo EFV: pacientes que utilizaram o esquema AZT/3TC/EFV versus os que utilizaram o esquema TDF/3TC/EFV; pelos efeitos adversos neuropsiquiátricos; pela descontinuação do tratamento com EFV: pacientes que descontinuaram a terapia com EFV devido a efeitos adversos neuropsiquiátricos versus pacientes que mantiveram; e pelo momento da ocorrência do efeito neuropsiquiátrico na terapia (apenas nos efeitos mais frequentes): pacientes que tiveram efeito adverso neuropsiquiátrico ao EFV apenas nas quatro primeiras semanas de terapia versus pacientes que tiveram efeitos adversos neuropsiquiátricos após as quatro primeiras semanas. Esta classificação foi feita devido à evidência disponível na literatura que os efeitos adversos neuropsiquiátricos relatados na terapia com EFV duram entre

duas a quatro semanas e, logo depois, desaparecem (Sutterlin et. al. 2010; Michaud et. al. 2012).

Efeitos adversos neuropsiquiátricos foram relatados por pacientes nas consultas clínicas de rotina. Os efeitos esperados foram: tonturas, cefaleia, alucinações, insônia, sonolência, sonhos anormais (pesadelos), perturbações do sono, fotofobia, fonofobia, perda de memória, tristeza, depressão, pensamentos suicidas, ansiedade, irritabilidade, hiperatividade, convulsão, hiperidrose, parestesias e fadiga. As definições dos efeitos estão presentes no Apêndice A e se basearam no Manual Diagnóstico e Estatístico de Transtornos Mentais, 5ª edição (DSM-5) (American Psychiatric Association, 2013).

Foram selecionados 50 pacientes que receberam esquema HAART sem EFV, contendo os antirretrovirais AZT/3TC/Lopinavir (LPV)/Ritonavir (R). Estes pacientes foram incluídos em uma segunda análise a fim de avaliar a relação dos efeitos adversos neuropsiquiátricos com EFV quando comparado com o esquema AZT/3TC/EFV.

Em uma terceira análise foi avaliado se existem diferenças significativas na ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos quando se compara o uso do AZT contra o uso do TDF em regimes não contendo EFV. Esta análise foi necessária para avaliar a contribuição destes antirretrovirais na ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos, visto que um ou outro é escolhido para compor esquemas contendo EFV. Para esta análise, utilizou-se pacientes que fizeram as HAARTs AZT/3TC/LPV/R versus TDF/3TC/LPV/R.

4.3.1 Critérios de admissibilidade

Foram selecionados critérios para inclusão dos pacientes neste trabalho. Tais critérios foram baseados em estudos de polimorfismos genéticos associados a alterações nas concentrações plasmáticas do EFV e a efeitos neuropsiquiátricos relacionados com o mesmo, adaptados de Ribaud et al. 2010, Sánchez Martín et al. 2013 e Swart et al. 2013 são estabelecidos a seguir:

- Adesão à terapia
- Idade maior igual a 18 anos
- Terapia com dose padrão de EFV de 600 mg ao dia
- Não estar em falha virológica no momento dos efeitos adversos
- Não ter histórico de doenças neurológicas e nem estar em diagnóstico ou suspeita de enfermidade que afete o sistema nervoso central (ex: Neurotoxoplasmose, Neurosífilis, etc.)
- Não estar em diagnóstico de hepatites e nem fazendo tratamento para Hepatite C
- Não estar fazendo tratamento neuropsiquiátrico
- Não estar em co-medicação com indutores ou inibidores do metabolismo do EFV

Dos 224 pacientes submetidos à terapia com EFV, 162 pacientes se enquadraram nos critérios e foram incluídos no estudo. Nas outras subanálises citadas, todos os pacientes se enquadraram nos critérios. A adesão à terapia foi estimada indiretamente pela *Medication Possession Ratio* (MPR) (Fairman and Matheral, 2000) calculada pelos registros das datas de retirada dos antirretrovirais

mensalmente pelos pacientes na farmácia do IMIP. Esta metodologia estatística mede a porcentagem do tempo que um paciente tem acesso à HAART. Uma adesão ótima foi definida como MPR ≥ 95 .

4.4 Aspectos éticos da pesquisa

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira - IMIP, e está registrado sob o número de protocolo 3629-13 (anexo), estando autorizados todos os procedimentos, desde a entrevista e coleta de amostra de sangue dos pacientes à análise dos prontuários e consulta de dados laboratoriais.

4.5 Variáveis estudadas

4.5.1 Variáveis clínicas e demográficas

As variáveis demográficas e clínicas selecionadas para a análise incluem aquelas que estavam disponíveis no início e durante a terapia antirretroviral contendo EFV e, dentre estas, as que são possivelmente influentes no resultado de um tratamento anti-HIV: sexo, idade no início da terapia com EFV, tempo de terapia com EFV, porcentagem de pacientes naive no início da terapia com EFV, carga viral e contagem de células T CD4+.

4.5.2 Polimorfismos genéticos

Os polimorfismos em genes candidatos foram selecionados através da busca na literatura, utilizando os bancos de dados 1000genomes Project Browser (<http://browser.1000genomes.org>), Hapmap (<http://www.hapmap.org>), SNPnexus (www.snp-nexus.org) e Human Cytochrome P450 (CYP) Alleles Nomenclature (www.cypalleles.ki.se) e critérios funcionais na farmacocinética de antirretrovirais, todos com MAF (do inglês, *Minimum Allele Frequency*) acima de 0,15. Foram escolhidos dez polimorfismos em sete genes que codificam para proteínas envolvidas na farmacocinética dos antirretrovirais e que podem estar associados com efeitos adversos neuropsiquiátricos relacionados ao EFV, conforme especificado na revisão de literatura, são eles: *CYP2B6* 516 G>T (rs3745274); *NR1I3* 540 G>A (rs2307424); *NR1I2* 44477 T>C (rs1523130); *ABCB1* A>G (rs2235048); *ABCB1* 4036 T>C (rs3842); *ABCB1* 3435 G>A (rs1045642); *ABCC1* 3'-UTR C>T (rs3743527); *ABCC1* 3'-UTR T>C (rs212091); *ABCC2* (rs2273697); *ABCC10* (rs2125739). Foram genotipados 99 pacientes, submetidos à terapia com EFV e estão presentes na coorte em estudo.

4.6 Genotipagem

Todos os SNPs foram genotipados com a tecnologia de sondas TaqMan na plataforma de PCR em tempo real ABI 7500 (Applied Biosystems), com o protocolo: desnaturação inicial a 95 °C por 10 min, seguida por 40 ciclos de amplificação (desnaturação a 95 °C por 15 s e anelamento/extensão a 60 °C por 1 min), conforme instruções do fabricante.

4.7 Análises estatísticas

A análise estatística foi realizada com auxílio do software R para Windows, versão 3.2.2 para Windows. O teste Exato de Fisher foi utilizado para testar a relação entre o sexo e o uso do EFV com o risco de ocorrência dos efeitos adversos neuropsiquiátricos. *Odds ratios* (OR) e o seu respectivo intervalo de confiança de 95% (95% CI) foram calculados.

Foi feita uma Análise de Sobrevivência para avaliar se as duas distintas HAARTs contendo EFV (AZT/3TC/EFV ou TDF/3TC/EFV) diferem significativamente no que diz respeito à distribuição dos efeitos adversos neuropsiquiátricos mais frequentes relacionados com EFV ao longo do tempo de terapia na coorte em estudo. Também foi utilizada esta metodologia para avaliar se o sexo influencia na ocorrência de efeitos neuropsiquiátricos ao longo do tempo. A duração da terapia foi registrada em semanas. Nesta análise, foram utilizados os testes Log-rank, onde se pretendeu avaliar se há influência das variáveis, e Regressão de COX que serviu para demonstrar de forma mais detalhada a contribuição de cada variável na modulação do risco de ocorrência de efeitos neuropsiquiátricos relacionados com EFV.

Estatística univariada utilizando o pacote SNPassoc do R foi utilizada para testar a associação das variáveis genéticas com a ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos relacionados ao EFV. O modelo de Regressão Logística foi utilizado para testar a associação ajustada para o polimorfismo *CYP2B6* 516 G>T que aumenta as concentrações plasmáticas do EFV, sexo e HAARTs contendo EFV (AZT/EFV ou TDF/EFV) em uma análise multivariada. Polimorfismos que tiveram *p-valor* abaixo de 0,1 na análise univariada foram incluídos no modelo de Regressão

Logística. Este modelo serviu para explicar o risco de ocorrência de efeitos neuropsiquiátricos relacionados ao EFV, baseando-se em fatores genéticos, quando controlados pelas variáveis expostas anteriormente.

5 Resultados

5.1 População de estudo

Características clínicas e demográficas dos 162 pacientes que fizeram terapia com EFV incluídos no estudo estão especificados na tabela 1. O tempo de terapia avaliado variou entre 1,4 semanas e 705 semanas (aproximadamente 13,5 anos) com uma média de terapia com EFV de 140 semanas (aproximadamente 3 anos). Além disso, a maioria dos pacientes teve boa evolução clínica, pois a média da contagem de linfócitos T CD4+ durante a terapia com HAART contendo EFV foi cerca de 494,5 células/mm³ e mais de 90% tiveram carga viral indetectável (<40 cópias/ml) no plasma. 22% dos pacientes que tiveram efeitos neuropsiquiátricos tiveram picos de carga viral detectável no plasma intercalado com períodos de carga viral indetectável. 63% dos pacientes (n = 102) eram terapia *naïve* no início do tratamento com HAART contendo EFV.

TABELA 1: Características clínicas e demográficas da população em estudo (n = 162).

Características	Valor
Idade no início da HAART contendo EFV (media em anos)	32.3
Sexo - n (% feminino)	87 (53.7%)
Terapia naive no início da HAART contendo EFV n - (%)	102 (63%)
Duração média da HAART contendo EFV em semanas (mínimo e máximo)	140 (1.4 - 705.1)
Duração média da terapia AZT/3TC/EFV em semanas (mínimo e máximo)	144.6 (1.4 - 705.1)
Duração média da terapia TDF/3TC/EFV em semanas (mínimo e máximo)	73 (1.5 - 398.4)
Duração da HAART contendo EFV quando houve descontinuação devido a efeitos adversos neuropsiquiátricos em semanas (mínimo e máximo)	51.8 (1.4 - 219)
Contagem média de linfócitos T CD4+ (células/mm ³) durante a HAART contendo EFV	494.5
Pacientes com carga viral indetectável (%)	92%
Pacientes que tiveram efeitos adversos neuropsiquiátricos e tiveram picos de carga viral detectável intercalado com períodos de carga viral indetectável (%).	22%

5.2 Frequência dos efeitos adversos neuropsiquiátricos

50.6% (n = 82) tiveram algum efeito neuropsiquiátrico relacionado com o EFV, apresentado na figura 10A. Dentre estes, o efeito mais frequente foi tonturas, com 24.1% (n = 39) dos pacientes, seguido de cefaleia com 13% (n = 21), depressão com 10.5%, (n = 17) e insônia com 8,6% (n = 14) dos pacientes. Outros efeitos menos comuns tiveram n ≤ 10 cada, foram: tristeza, ansiedade, perturbação do sono, parestesias, sonhos anormais, sonolência, irritabilidade, alucinações, fotofobia e fadiga. Outro efeito inespecífico foi relatado nos prontuários como “intolerância ao EFV”, acometendo 6.2% (n = 10) dos pacientes. Efeitos com frequência muito baixa tiveram n ≤ 3 cada, foram fonofobia, pensamentos suicidas, perda de memória, hiperatividade, convulsão e déficit cognitivo. Hiperidrose não foi relatado na nossa coorte. A distribuição dos efeitos neuropsiquiátricos e suas frequências estão apresentadas na figura 10B.

Cento e vinte e sete pacientes utilizaram a HAART AZT/3TC/EFV, cinquenta pacientes utilizaram TDF/3TC/EFV e sete pacientes utilizaram outras HAARTs contendo EFV (figura 10C). Vale ressaltar que houve vinte pacientes que utilizaram duas HAARTs contendo EFV e um paciente que utilizou três HAARTs contendo

EFV, em momentos distintos dentro do período de tratamento. Dentre os pacientes que receberam AZT/3TC/EFV, 55,1% (n = 70) tiveram efeitos adversos neuropsiquiátricos. Entre os pacientes que tomaram TDF/3TC/EFV, foram relatados 32% (n = 16) (Figura 10A).

Entre os oitenta e dois pacientes que relataram efeitos adversos neuropsiquiátricos na terapia com EFV, 28% (n = 23) tiveram a HAART contendo EFV interrompida, sendo este antirretroviral retirado do esquema (Figura 10D).

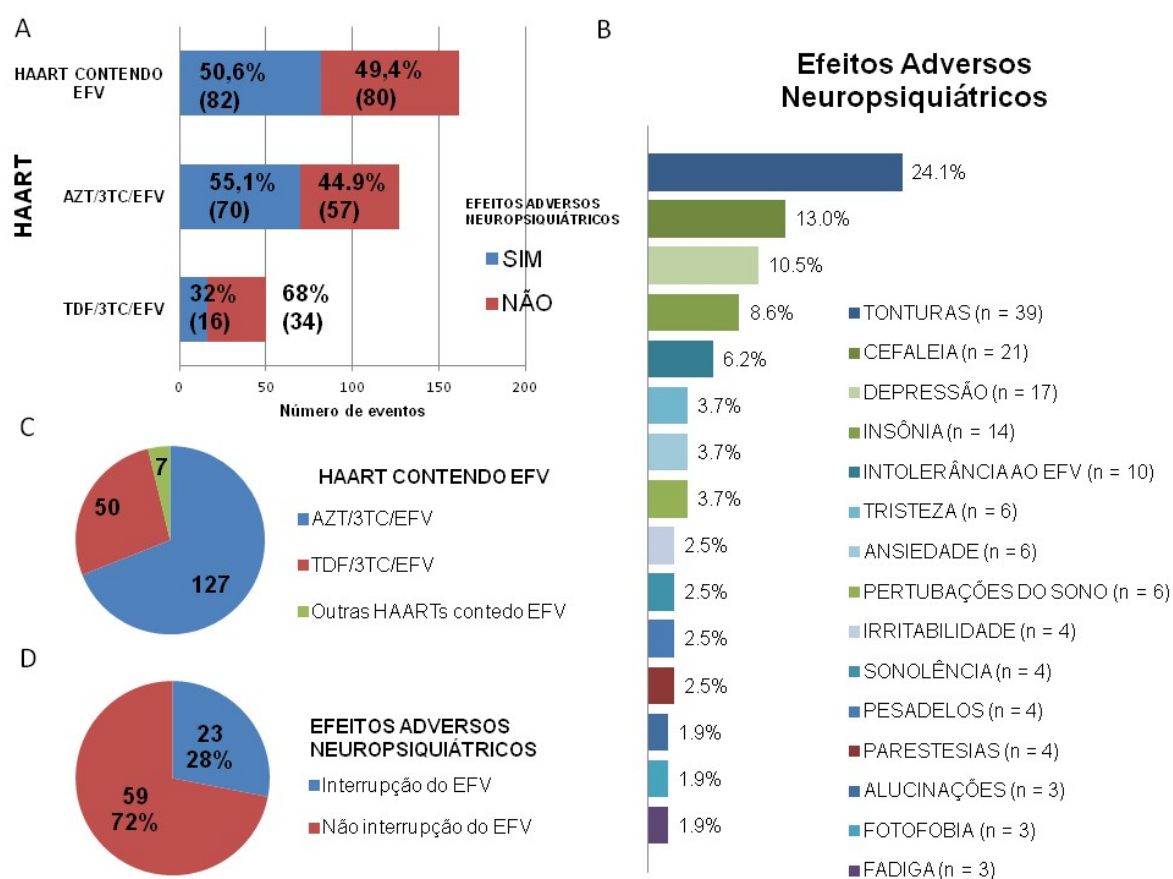


FIGURA 10: (A e B) Frequência dos efeitos adversos neuropsiquiátricos relacionados ao EFV. (C) Distribuição de acordo com a HAART contendo EFV. (D) Interrupções da terapia com EFV devido a efeitos adversos neuropsiquiátricos

No que diz respeito à frequência de efeitos neuropsiquiátricos antes e após as primeiras quatro semanas de tratamento com HAART contendo EFV, tonturas foi o

único efeito adverso que teve distribuição de ocorrência aproximada nos dois períodos. Cefaleia, com 85,7% dos eventos (n = 18), Insônia, com 78,5% (n = 11) e depressão, com 100% (n = 17), tiveram distribuição dos efeitos mais frequentes após as quatro primeiras semanas de tratamento. A figura 11 sumariza a distribuição destes efeitos antes e depois das primeiras quatro semanas de tratamento.

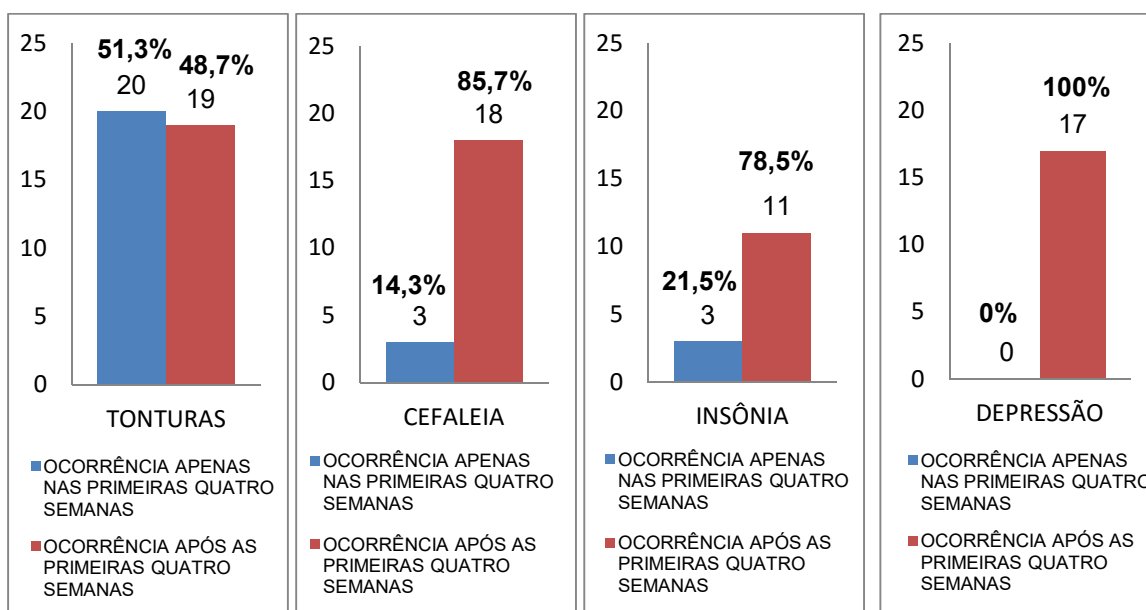


FIGURA 11: Distribuição da ocorrência dos efeitos tonturas, cefaleia, insônia e depressão antes e depois das primeiras quatro semanas de terapia com EFV.

Entre os cinquenta pacientes que utilizaram a HAART sem EFV, AZT/3TC/LPV/R, 12% (n = 6) relataram efeitos neuropsiquiátricos, sendo 6% (n = 3) ocorrência de tonturas. Dezoito pacientes utilizaram a HAART sem EFV, TDF/3TC/LPV/R, 11% (n = 2) relataram tonturas.

5.3 Análises estatísticas univariadas

Na nossa coorte, o uso do EFV foi associado com o risco de aproximadamente nove vezes para a ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos (OR: 8,9; 95% IC: 3,4 – 27,4; p-valor <0,0001) (Tabela 2A). Não houve diferenças significativas entre o uso de AZT ou o uso de TDF para o risco de ocorrência de tonturas (OR: 1,9; 95% IC: 0,1 – 18,5; p-valor: 0,6) (Tabela 2B)

A ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos em pacientes tratados com EFV teve risco, aproximadamente, duas vezes maior em mulheres quando comparado com homens (OR: 2,2; 95% IC: 1,13 – 4,4; p-valor = 0,017) (Tabela 2C).

TABELA 2: Análises estatísticas univariadas. (A) HAART contendo EFV versus HAART sem EFV para efeitos neuropsiquiátricos. (B) AZT versus TDF, ambos sem EFV para a ocorrência de tonturas. (C) Ambos os sexos para efeitos neuropsiquiátricos.

A	HAART contendo EFV	Efeitos adversos neuropsiquiátricos n(%)	OR	[95% IC] (p- valor)	B	AZT vs TDF	tonturas n (%)	OR	[95% IC] (p- valor)
	AZT/3TC /EFV (n=127)	70 (55,1)	8,9	[3,4 –27,4] (<0,00001)		TDF/3TC/L PV/R (n=18)	2 (11,1)	1,9	[0,1 – 18,5] (0.6)
	AZT/3TC /LPV/R (n=50)	6 (12)			referência	AZT/3TC/L PV/R (n=50)	3 (6)		referência
C	Sexo		Efeitos adversos neuropsiquiátricos n(%)	OR	[95% IC] (p- valor)				
	feminino (n=87)		52 (59.8)	2.2	[1.13 – 4.4] (0.017)				
	masculino (n=75)		30 (40)		reference				

OR: Odds ratios; 95% IC: intervalo de confiança de 95%

AZT – Zidovudina; 3TC – Lamivudina; EFV – Efavirenz; TDF – Tenofovir; LPV – Lopinavir; R – Ritonavir

5.4 Análises de Sobrevivência

A análise de sobrevivência foi usada para avaliar a ocorrência dos efeitos tonturas, depressão e insônia, por estarem entre os mais frequentes na coorte em estudo. Em relação à ocorrência de tonturas ao longo do tempo, o teste Log-rank mostrou que houve diferenças significativas quando se comparam os pacientes que utilizaram AZT/3TC/EFV com os pacientes que utilizaram TDF/3TC/EFV (Log-rank X^2 : 4,5; p-valor: 0,03). A regressão de Cox mostrou que a combinação AZT/EFV está associada a 2,7 mais risco de ocorrência de tonturas ao longo do tempo quando se compara com a combinação TDF/EFV (HR: 2,7; p-valor: 0,04) (Tabela 3). Os dois regimes de HAART contendo EFV citados não tiveram influência para os efeitos depressão (Log-rank X^2 : 1,9; p=0,17; HR: 3,7; p: 0,2), nem insônia (Log-rank X^2 : 1,1; p-valor: 0,3; HR: 0,5; p-valor: 0,3).

Quando se comparou ambos os sexos, o teste Log-rank mostrou que houve diferenças significativas na frequência de depressão ao longo do tempo (Log-rank X^2 : 4,4; p-valor: 0,03); sendo o sexo feminino marginalmente associado com 3,5 mais risco de depressão (HR: 3,5; p-valor: 0,05). Não houve influência significativa do sexo na ocorrência de tonturas (Log-rank X^2 : 0,6; p-valor: 0,4; HR: 1,3; p-valor: 0,4) e nem na ocorrência insônia (Log-rank X^2 : 0,1; p-valor: 0,7; HR: 1,1; p-valor: 0,7). As análises de sobrevivência estão apresentadas na tabela 3.

TABELA 3: Resultados das análises de sobrevivência para ocorrência de tonturas, depressão e insônia.

Fator de risco	Tonturas, n (%)	Log-rank X^2 (p-valor)	HR [95% IC] (p-valor)
TDF/3TC/EFV (n=50)	5 (10.0)	4.5 (0.03)	referência
AZT/3TC/EFV (n=127)	34 (26.7)		2.7 [1.04-6.88] (0.04)
Sexo (masculino, n=74)	16 (21.6)	0.6 (0.45)	referência

Sexo (feminino, n=86)	23 (26.7)		1.3 [0.68-2.43] (0.45)
	Depressão, n (%)		
TDF/3TC/EFV (n=50)	1 (2.0)		referência
AZT/3TC/EFV (n=127)	15 (11.8)	1.9 (0.17)	3.7 [0.5-28.8] (0.2)
Sex (masculino, n=74)	3 (4.0)		referência
Sex (feminino, n=86)	13 (15.1)	4.4 (0.03)	3.5 [1.0-12.4] (0.05)
	Insônia, n (%)		
TDF/3TC/EFV (n=50)	5 (10.0)		referência
AZT/3TC/EFV (n=127)	9 (7.0)	1.1 (0.3)	0.56 [0.18-1.69] (0.3)
Sex (masculino, n=74)	6 (8.0)		referência
Sex (feminino, n=86)	8 (9.3)	0.1 (0.77)	1.17 [0.4-3.4] (0.77)

HR: hazard ratio modelo proporcional de COX
95% IC: 95% intervalo de confiança de 95%
AZT/3TC/EFV: Zidovudina, Lamivudina e Efavirenz
TDF/3TC/EFV: Tenofovir, Lamivudina e Efavirenz

5.5 Genotipagem

5.5.1 Frequências alélicas e genotípicas dos genes candidatos e resultados da associação estatística

As frequências observadas dos genótipos dos genes candidatos *ABCB1*; *ABCC1*; *CYP2B6*; *ABCC2*; *ABCC10*; *NR1I3*; *NR1I2* estiveram em conformidade com o Princípio de Hardy-Weinberg. Apenas o alelo C do polimorfismo rs2125739 do gene *ABCC10* foi estatisticamente associado, sendo 2,6 vezes maior o risco de ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos em pacientes tratados com EFV, tendo frequência de 30,3% nos casos e frequência de 15,5% nos controles (OR: 2,6; p-valor: 0,03). As frequências alélicas e genotípicas para todos os loci, bem como as medidas de associação (OR, 95% IC) e seus p-valores correspondentes estão sumarizados na tabela 4.

TABELA 4: Frequências alélicas e genotípicas para os SNPs dos genes candidatos, testes de associação com a ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos relatados no tratamento com EFV.

SNPs	Alelos Minoritários e Genótipos	Frequências		OR [IC de 95%]	p- valor
		Grupo controle n=29 (%)	Grupo caso n=57 (%)		
rs1045642 <i>ABCB1</i>	A	17/58 (29,3)	40/114 (35,0)	1,3 [0,6 - 2,6]	0,43
	G/G	15 (51,7)	23 (40,4)	-	0,57
	A/G	11 (37,9)	28 (49,1)		
	A/A	3 (10,3)	6 (10,5)		
rs2235048 <i>ABCB1</i>		n=28 (%)	n=55 (%)		
	G	16/56 (28,5)	41/110 (37,2)	1,5 [0,7 - 3,1]	0,24
	A/A	15 (53,6)	20 (36,4)	-	0,29
	A/G	10 (35,7)	29 (52,7)		
rs3842 <i>ABCB1</i>	G/G	3 (10,7)	6 (10,9)		
		n=25 (%)	n=51 (%)		
	C	6/50 (12)	13/102 (12,7)	1,0 [0,4 - 2,8]	0,6
	T/T	19 (76,0)	40 (78,4)	-	0,6
rs212091 <i>ABCC1</i>	C/T	6 (24,0)	9 (17,6)		
	C/C	0 (0)	2 (3,9)		
		n=27 (%)	n=54 (%)		
	C	9/54 (16,6)	10/108 (9,2)	0,5 [0,2 - 1,4]	0,2
rs3743527 <i>ABCC1</i>	T/T	19 (70,4)	45 (83,3)	-	0,41
	C/T	7 (25,9)	8 (14,8)		
	C/C	1 (3,7)	1 (1,9)		
		n=27 (%)	n=52 (%)		
rs3745274* <i>CYP2B6</i>	T	8/54 (14,8)	21/104 (20,2)	-	-
	C/C	19 (70,4)	31 (59,6)	-	0,34
	C/T	8 (29,6)	21 (40,4)		
	T/T	0 (0)	0 (0)		
rs2273697 <i>ABCC2</i>		n=26 (%)	n=51 (%)		
	T	16/52 (30,7)	33/102 (32,3)	1,0 [0,5 - 2,3]	0,83
	G/G	13 (50,0)	21 (41,2)	-	0,41
	G/T	10 (38,5)	27 (52,9)		
rs2273697 <i>ABCC2</i>	T/T	3 (11,5)	3 (5,9)		
		n=29 (%)	n=57 (%)		
	A	9/58 (15,5)	22/114 (19,3)	1,2 [0,5 - 2,7]	0,19
	G/G	20 (69,0)	40 (70,2)	-	0,19
rs2273697 <i>ABCC2</i>	A/G	9 (31,0)	12 (21,1)		
	A/A	0 (0)	5 (8,8)		

		n=42 (%)	n=56 (%)		
rs2125739* <i>ABCC10</i>	C	13/84 (15,5)	34/112 (30,3)	2,6 [1,2 – 5,8]	0,03
	T/T	29 (69,0)	26 (46,4)		
	C/T	13 (31,0)	26 (46,4)	-	0,03
	C/C	0 (0)	4 (7,1)		
		n=29 (%)	n=51 (%)		
rs2307424 <i>NR1I3</i>	A	14/58 (24,1)	26/102 (25,5)	1,0 [0,5 – 2,2]	0,85
	G/G	17 (58,6)	29 (56,9)		
	A/G	10 (34,5)	18 (35,3)	-	0,98
	A/A	2 (6,9)	4 (7,8)		
		n=29 (%)	n=55 (%)		
rs1523130 <i>NR1I2</i>	C	30/58 (51,7)	51/110 (46,3)	0,8 [0,4 – 1,5]	0,49
	TT	8 (27,6)	13 (23,6)		
	C/T	12 (41,4)	33 (60,0)	-	0,20
	C/C	9 (31,0)	9 (16,4)		

* Polimorfismos selecionados para análise de Regressão Logística

OR: odds ratios

95% IC – intervalo de confiança de 95%

5.6 Regressão Logística

Diante do que foi observado quando se comparou o sexo e as duas HAART contendo EFV (AZT/EFV ou TDF/EFV) no que diz respeito à ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos relacionados ao EFV, ambas variáveis foram incluídas no modelo de Regressão Logística junto com os SNPs rs2125739 (*ABCC10*) e rs3745274 516 G>T (*CYP2B6*). Tais SNPs foram escolhidos, o primeiro por ter sido associado a efeitos adversos neuropsiquiátricos na análise univariada e o segundo por ser um polimorfismo bem descrito na literatura associado ao aumento das concentrações plasmáticas do EFV e, conseqüentemente, maior risco de toxicidade, conforme citado na revisão de literatura. Nesta análise foi adotado o modelo dominante para os SNPs, colocando o genótipo heterozigoto de cada locus junto

com o homozigoto minoritário, sendo necessário uma vez que para o SNP rs2125739, não foi encontrado o genótipo homozigoto minoritário no grupo controle.

Os resultados da Regressão Logística mantiveram a associação significativa do SNP rs2125739 (*ABCC10*) com a ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos relatados no tratamento com EFV, aumentado significativamente o risco depois de ajustado para as variáveis. De acordo com o modelo, a presença dos genótipos C/T ou T/T do rs2125739 (*ABCC10*) está associada com risco de 5,1 vezes maior para ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos relatados na terapia com EFV (OR: 5,1; 95% IC: 1,7 – 18,7; p-valor: 0,007).

Para prever a probabilidade de ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos com e sem as variáveis de risco no modelo de regressão logística calculou-se a exponencial da soma das estimativas: intercepto, genótipos rs212739, genótipos rs3745274, sexo, e HAART contendo EFV (AZT/EFV ou TDF/EFV) (tabela 5), multiplicada pela variável analisada (sendo 1 para variável de risco e 0 para a variável não risco) dividindo este valor pela soma de 1 mais a respectiva exponencial. Os resultados deste cálculo mostraram que: baseando-se em um indivíduo hipotético sem as variáveis de risco (um homem, que utiliza EFV combinado a TDF ao invés do AZT e que não possui os genótipos de risco para ambos os genes) a probabilidade deste indivíduo ter efeitos adversos neuropsiquiátricos relacionados ao EFV é de 21,4%. Quando este cenário se inverte, e temos uma mulher que faz uso do AZT combinado ao EFV, e que apresenta os genótipos de risco para ambos os genes, a probabilidade de ocorrência de efeitos neuropsiquiátricos sobe para 92,1%. A tabela 5 a seguir, apresenta as variáveis incluídas no modelo e os resultados estatísticos relacionados.

TABELA 5: Coeficientes estimados, OR (odds ratios) relacionadas, intervalos de confiança de 95% e p-valores do modelo de regressão logística para explicar a ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos relatados no tratamento com EFV.

Variável	Estimativa	OR [IC de 95%]	p-valor
Sexo	0,7258	2,0663 [0,6470 - 6,7052]	0,2188
AZT/EFV ou TDF/EFV	0,7117	2,0374 [0,3281 - 12,8954]	0,4382
Genótipos rs3745274 (<i>CYP2B6</i>)*	0,6832	1,9802 [0,6791 - 6,0357]	0,2157
Genótipos rs2125739 (<i>ABCC10</i>)*	1,6400	5,1550 [1,6714 - 18,7625]	0,0068
Intercepto	-1,3009	-	0,1535

* Modelo dominante

6. Discussão

A frequência dos pacientes que apresentaram efeitos adversos neuropsiquiátricos relacionados ao Efavirenz neste estudo (50,6%) está de acordo com o que é apresentado na literatura em populações diferentes da brasileira. Decloedt e Maartens afirmam que, geralmente, os efeitos neuropsiquiátricos relacionados com o Efavirenz acometem 68% dos pacientes que usam o mesmo esquema na HAART (Decloedt e Maartens, 2013). Em outros estudos, a frequência de pacientes que apresentam tais efeitos é de 40 a 70% (von Giensen et al., 2002; Wynn et al., 2002). Esta porcentagem é considerada alta pela literatura, apesar do bom perfil de segurança da droga (von Giensen et al., 2002; Sánchez Martín et. al., 2013; Decloedt e Maartens, 2013), o que mostra a relevância de se estudar a distribuição desses efeitos no SNC e como minimizá-los em pacientes que fazem terapia com Efavirenz. Vale ressaltar que tais sintomas ocorreram apesar dos bons resultados clínicos dos pacientes: contagem de linfócitos T CD4+ médio de 494

células/mm³ e carga viral indetectável em 92% dos pacientes. Blanch et al., 2001 afirmam que efeitos adversos neuropsiquiátricos relatados na terapia com EFV são responsáveis por 13% do abandono do tratamento nas duas primeiras semanas (Blanch, et. al., 2001).

Na nossa coorte, 28% dos pacientes que relataram efeitos adversos neuropsiquiátricos, interromperam o tratamento com EFV. A continuidade dos efeitos adversos neuropsiquiátricos favorece o uso irregular da terapia e, conseqüentemente, a falha no tratamento (Sánchez Martín et. al. 2013; Decloedt e Maartens 2013). Nós observamos que 22% dos pacientes que relataram efeitos adversos neuropsiquiátricos tiveram picos de carga viral detectável, intercalados com períodos de carga viral indetectável, que podem ser por consequência de uso irregular da HAART contendo EFV, devido a um efeito adverso subjacente.

A literatura afirma que os efeitos adversos neuropsiquiátricos mais frequentes relatados na terapia com EFV são: tonturas, cefaleia, insônia, sonhos anormais, irritabilidade, sonolência, parestesias, ansiedade e depressão (Michaud et al., 2012; Sánchez Martín et. al., 2013; Decloedt e Maartens, 2013). Estes efeitos também foram muito frequentes em nossa coorte, mais ainda a presença de efeito “tristeza”, que também foi encontrado no estudo de Sánchez Martin et al., 2013 (Sánchez Martín et. al., 2013; Abers, et. al. 2014). Vários estudos relatam que esses sintomas ocorrem durante as primeiras duas a quatro semanas de tratamento e depois desaparecem (Sutterlin, et al., 2010; Michaud, et. al., 2012), No entanto, nós observamos que cefaleia, insônia e depressão foram mais frequentes após as primeiras quatro semanas de terapia com EFV. No caso de depressão, este dado foi ainda mais evidente, pois em nenhum momento este evento aconteceu até as primeiras quatro semanas de tratamento. Nossos resultados consistem com as

evidências de que os efeitos adversos neuropsiquiátricos podem continuar mais tempo ou durar até longo prazo em alguns pacientes (Sánchez Martín et al., 2013). Michaud et. al., afirmam que alguns pacientes podem desenvolver efeitos mais graves como psicose, mania, pensamentos suicidas e depressão de forma mais severa (Michaud, et. al. 2012)

Clifford et al., 2009, em seu estudo, observaram que pacientes que tomavam EFV por três anos tiveram níveis aumentados de sonhos anormais e picos de ansiedade (Clifford, et al., 2009). Já Ciccarelli et. al., 2011 verificaram que dos pacientes acompanhados que tomavam EFV por mais de um ano, 47% estavam com déficit cognitivo (Ciccarelli, et. al., 2011). Estes resultados demonstram a possibilidade de existirem efeitos neuropsiquiátricos relacionados ao EFV em longo prazo.

Nós observamos que a incidência de efeitos adversos neuropsiquiátricos no tratamento com EFV foi duas vezes mais comum em mulheres (Tabela 2). Especificamente para o efeito depressão, onde a análise de sobrevivência mostrou que as mulheres têm mais risco de apresentarem esse efeito relacionado com o EFV ao longo do tempo (Tabela 3), embora o p-valor desta análise indique uma tendência. Burger et al. descobriram que a concentração plasmática média de EFV foi 30% maior em mulheres do que em homens (Burguer et. al. 2006), possivelmente devido a menor depuração de EFV em mulheres, quando comparadas aos homens (Barret et. al. 2002). Apesar das diferenças nas concentrações plasmáticas de EFV entre os sexos, é provável que essas diferenças não sejam suficientes para ajustes de doses (Usach et. al. 2013). Diante disso, e uma vez que concentrações plasmáticas aumentadas de EFV podem levar a ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos (Swart et. al., 2013; Sánchez Martín, et. al., 2013), nossos

resultados estão condizentes com tais estudos apesar da associação estatística marginal, que poderia ser solucionada com o aumento do número amostral.

Em nossa coorte, o uso do EFV foi nove vezes mais associado a efeitos adversos neuropsiquiátricos do que a combinação LPV/R, que são inibidores de protease, quando usados em esquema contendo AZT/3TC (Tabela 2). Apesar de está bem esclarecido na literatura, este resultado nos mostra claramente o efeito colateral do EFV em nossa coorte e também sugere que, embora o AZT tenha sido associado ao efeito neuropsiquiátrico cefaleia (Montessori et. al. 2004), o impacto do EFV sobre os efeitos adversos neuropsiquiátricos é quase que exclusivo.

Pela primeira vez ficou demonstrado, através da análise de sobrevivência em nossa coorte, que a combinação AZT/EFV difere significativamente da combinação TDF/EFV em relação à ocorrência de tonturas. A presença do AZT ao invés do TDF na combinação com EFV aumenta o risco de tonturas ao longo do tempo (Tabela 3)

Este resultado por si só não explica totalmente se o maior risco para tonturas em pacientes em uso de AZT/EFV em comparação com TDF/EFV é devido a um efeito aditivo do AZT com EFV ou um efeito sinérgico de AZT com EFV, potencializando tonturas relacionadas ao EFV somente quando ambos estão combinados. No entanto, nosso trabalho demonstrou que AZT e TDF sem a presença de EFV, em relação ao risco de tonturas, não diferem significativamente (Tabela 2). Assim, sugerimos que as diferenças observadas entre as combinações AZT/EFV e TDF/EFV em relação a um maior risco de ocorrência de tonturas pode ser devido a um efeito sinérgico entre AZT e EFV, porque, no que diz respeito a tonturas, o efeito líquido da combinação é maior do que poderia ser a soma dos efeitos individuais de AZT e EFV. Se fosse meramente um efeito aditivo, a combinação AZT/EFV e TDF/EFV para o efeito tonturas não apresentariam

diferenças, já que ambos sem a presença do EFV foram estatisticamente iguais, conforme demonstrado neste estudo.

Neste trabalho, ficou demonstrado a não associação dos polimorfismos rs2307424 (*NR1I3*); rs1523130 (*NR1I2*); rs3745274 (*CYP2B6*); rs1045642, rs2235048 e rs3842, do gene *ABCB1*; rs212091, rs3743527 ambos do gene *ABCC1* e rs2273697 (*ABCC2*); sendo associado com a ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos relacionados ao EFV apenas o polimorfismo rs2125739* *ABCC10* (tabela 4).

Os genes *NR1I3* e *NR1I2* codificam para fatores de transcrição envolvidos na expressão de proteínas metabolizadoras do EFV e de outros antirretrovirais (Shelby et. al. 2006; Wortham et al. 2007; Sarfo et. al. 2014; D'Avolio et. al. 2014). O polimorfismo rs2307424 *NR1I3* não esteve associado em nossa coorte embora o genótipo CC tenha sido associado a aumentos nas concentrações plasmáticas de EFV e interrupção do tratamento, antes dos três primeiros meses, devido a efeitos adversos neuropsiquiátricos (Wyen et. al. 2011). Posto que o respectivo gene está ligado a expressão de metabolizadores do EFV, o impacto no efeito teria certa dependência da variabilidade genética nos genes deste metabolizadores, em um primeiro momento. Portanto, é possível que outras variações presentes no mesmo gene possam estar associadas com a presença de efeitos adversos ao EFV.

Os transportadores da família ABC impedem o acesso a drogas no sistema nervoso central, e também regulam o transporte em hepatócitos e a absorção no intestino delgado (Michaud et. al. 2012). A presença dos polimorfismos rs1045642 (3435 C>T) *ABCB1*, que está relacionado à baixa transcrição do gene, e rs2235048 *ABCB1*, localizado numa região intrônica, podia se esperar alguma relação com a ocorrência de efeitos neuropsiquiátricos, pois no primeiro, o alelo TT já foi associado

a níveis plasmáticos reduzidos de EFV (Elens et al. 2012); o mesmo pode se dizer do polimorfismo rs3842 4036T>C (*ABCB1*) que já foi associado ao aumento da exposição a este antirretroviral (Brumme, et. al. 2003), mas os três não apresentaram associação estatística em nossa população de estudo.

Os polimorfismos rs212091 e rs3743527, ambos região 3' UTR do gene *ABCC1* que estão relacionados a decréscimo na expressão da proteína, não estiveram associados em nosso estudo, embora fosse plausível a associação uma vez que a proteína codificada é extremamente abundante na barreira hematoencefálica e sua baixa expressão através da presença do alelo A no polimorfismo rs45560437 *ABCC1* foi associada a efeitos neuropsiquiátricos no estudo de Sanchez Martín, 2013 (Sanchez Martín et al. 2013).

Com relação ao polimorfismo rs2273697 do gene *ABCC2* não existem evidências na literatura de associação a efeitos adversos neuropsiquiátricos relacionados ao EFV, porém alguns autores sugerem envolvimento na alteração dos níveis plasmáticos deste antirretroviral (Fellay et al., 2002; Haas et al., 2005). Novos estudos, com um número amostral maior, podem ajudar a esclarecer mais estes resultados.

Pela primeira vez o polimorfismo rs2125739 do gene *ABCC10* foi associado à ocorrência de efeitos neuropsiquiátricos relacionados ao tratamento com EFV. Tal polimorfismo presente no éxon 12, localizado em um sítio de splicing, leva a mudança no códon ATC para o códon não sinônimo ACC, e consequente mudança do aminoácido isoleucina para treonina, levando a alteração na proteína e também na sua expressão (Kathawala et al. 2014; 1000 genomes, 2015). *ABCC10* codifica para a proteína MRP7, que é um transportador de moléculas lipofílicas para fora da célula, localizado na membrana basolateral celular, estando envolvido na

desintoxicação celular, inclusive na barreira hematoencefálica (Chen et al., 2002; Kathawala et al., 2014). Com este resultado, é possível supor que esta proteína possa estar envolvida no transporte de EFV ou de seus metabólitos para fora da barreira hematoencefálica e que possíveis alterações nesta proteína podem afetar este transporte, aumentando a probabilidade de efeitos adversos neuropsiquiátricos.

Para nossa surpresa, o polimorfismo rs3745274 (haplótipo CYP2B6*6) do gene *CYP2B6* que é bem descrito na literatura como associado ao metabolismo prejudicado e aumento nas concentrações plasmáticas do EFV e consequentemente risco de toxicidade (Arab-Alamedine et al., 2009; Ribaud et al., 2010; Swart et al., 2013; Sánchez Martín et al., 2013), também já associado a efeitos neuropsiquiátricos no tratamento com EFV, (Sánchez Martín et al., 2013), não esteve associado em nossa coorte. Uma vez que no metabolismo de EFV influenciam outras enzimas, tais como CYP2A6, CYP3A4, CYP1A2, e que a atividade das enzimas CYP2A6 e CYP3A4 são acentuadas quando a isoenzima CYP2B6 está prejudicada (Julia di Iulio et. al. 2009; Arab-Alamedine et al. 2009), uma análise conjunta com outros genes que codificam para metabolizadores do EFV poderia ajudar a esclarecer este resultado. Outra limitação é a ausência das dosagens plasmáticas do EFV neste estudo logo após seu uso durante a terapia, que poderia ser confrontado com a presença de polimorfismos e a ocorrência de efeitos adversos neuropsiquiátricos.

Entretanto quando foi avaliada a presença desta variação correlacionado ao polimorfismo rs2125739 (*ABCC10*), mais o sexo e a HAART combinada ao EFV (AZT ou TDF), o polimorfismo rs2125739 (*ABCC10*) esteve associado significativamente com um alto risco para efeitos neuropsiquiátricos no tratamento com EFV (tabela 5). O que corrobora com os estudos que indicam que o risco de ocorrência de efeitos neuropsiquiátricos no tratamento com EFV é proporcional ao

aumento nas concentrações plasmáticas da droga (Cabrera et. al. 2010; Swart et. al. 2013; Sánchez Martín et. al. 2013; Barreiro et. al. 2014), apesar desse aumento nas concentrações seja predito por uma estimativa indireta, indicada pelo polimorfismo rs3743527 (*CYP2B6*) bem descrito na literatura para este efeito.

A análise de Regressão Logística demonstrou que um paciente do sexo feminino, que usa EFV com AZT ao invés de TDF e apresenta os genótipos de risco para os polimorfismos rs2125739 (*ABCC10*), contendo o alelo C. e rs3743527 (*CYP2B6*), contendo o alelo T, possui uma probabilidade de 92,1% de apresentar efeitos adversos neuropsiquiátricos relacionados ao EFV. Tal probabilidade diminui para 21,4%, quando esses fatores de risco não estão presentes. Esta análise poderia prever, baseada em fatores genéticos, quais pacientes possuem maior probabilidade de apresentar efeitos neuropsiquiátricos durante a terapia com EFV, e assim auxiliar na prática clínica, a fim de encontrar o melhor esquema terapêutico para aquele paciente em eficácia e baixo risco de toxicidade, antes de iniciar a terapia.

7. Conclusão

Este trabalho demonstrou um alto percentual de pacientes HIV-positivos (50.6%) que relataram efeitos adversos neuropsiquiátricos durante a terapia com Efavirenz. Entretanto, somente 28% destes (14,2% do total) tiveram a terapia com EFV interrompida. Este dado é preocupante, uma vez que tais efeitos estão diretamente relacionados à baixa adesão a terapia.

Cefaleia, Insônia e Depressão tiveram maior distribuição após as primeiras quatro semanas de tratamento com EFV, sugerindo que os efeitos

neuropsiquiátricos relatados na terapia com EFV podem ocorrer e durar a médio e longo prazo, não se limitando apenas aos períodos iniciais da terapia. Ficou demonstrado que o uso do EFV na HAART estava associado a um risco elevado de efeitos neuropsiquiátricos em nossa coorte, e que as mulheres eram mais afetadas, inclusive nos episódios de depressão avaliados ao longo do tempo de terapia.

Em relação à HAART contendo Efavirenz, ficou demonstrado que o uso de EFV com AZT ao invés do TDF potencializa o risco de tonturas ao longo do tempo, apesar de AZT e TDF não apresentarem diferenças significativas para a ocorrência desse efeito em regimes sem a presença de EFV, o que sugere um efeito sinérgico entre a AZT e EFV, potencializando as tonturas relacionadas ao EFV, apenas quando ambos estão em conjunto.

As análises estatísticas demonstraram que os polimorfismos nos genes *NR1I2*, *NR1I3*, *ABCB1*, *ABCC1*, *ABCC2*, e *CYP2B6* não estiveram associados a ocorrência de efeitos neuropsiquiátricos relatados no tratamento com EFV em nossa coorte.

Por fim, ficou constatada a associação do polimorfismo rs2125739 (*ABCC10*), alelo C, com a ocorrência de efeitos neuropsiquiátricos na terapia com EFV, e, quando ajustada para fatores de risco demográficos, clínicos e genéticos, este último relacionado ao aumento nas concentrações plasmáticas do EFV, esta associação se torna mais significativa e o risco para o efeito se eleva. No modelo de regressão logística, um paciente de sexo feminino que usa EFV com AZT, ao invés de TDF, e apresenta os genótipos de risco para os polimorfismos rs2125739 (*ABCC10*), contendo o alelo C, e rs3743527 (*CYP2B6*), contendo o alelo T, apresenta uma probabilidade de 92% de ter efeitos adversos neuropsiquiátricos.

8. Referências bibliográficas

- 1000genomes (2015) 1000genomes browser. Acesso em 30 de out. 2015.
<browser.1000genomes.org/index.html>
- Abers MS, Shandera WX, Kass JS (2014) Neurological and psychiatric adverse effects of antiretroviral drugs. *CNS Drugs* 28:131-145
- Arab-Alameddine M, Di Iulio J, Buclin T, The Swiss HIV Cohort Study, et al. (2009) Pharmacogenetics-Based Population Pharmacokinetic Analysis of efavirenz in HIV-1-Infected Individuals. *Clin. Pharmacol Ther.* 85(5):485-494
- Alves S, D'avila S, de Freitas MA, et. al. (2012). Progress Report on the Brazilian Response to HIV/AIDS. Brasil, Departamento de DST-AIDS e Hepatites Virais. 125p
- American Psychiatric Association (2013) Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. American Psychiatric Association. 5ed. 970p
- An P and Winkler CA (2010) Host genes associated with HIV/AIDS: advances in gene discovery. *Trends in genetics* 26:119–131
- Avery LB, Sacktor N, McArthur JC, Hendrix CW (2013) Protein-free efavirenz concentrations in cerebrospinal fluid and blood plasma are equivalent: applying the law of mass action to predict proteinfree drug concentration. *Antimicrob Agents Chemother* 57(3):1409–14
- Bachelor LT, Anton ED, Kudish P, Baker D, Bunville J, Krakowski K, et al. (2000) Human immunodeficiency virus type 1 mutations selected in patients failing efavirenz combination therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 44(9): 2475_84

- Barre-Sinoussi F, Chermann J, Rey F, et al. (1983) Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 220:868-871.
- Barre-Sinoussi F (1996) HIV as the cause of AIDS. *Lancet* 348(9019): 31-35
- Barreiro P, Fernández-Montero JV, de Mendonza C, Labarga P, Soriano V (2014) Pharmacogenetics of antiretroviral therapy. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol* 10(8):1-12
- Barrett JS, Joshi AS, Chai M, et. al. (2002) Population pharmacokinetic meta-analysis with efavirenz. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2002;40(11):507_19.
- Battiste JL, Mao H, Rao NS, et. al. (1996) Alpha helix-RNA major groove recognition in an HIV-1 rev peptide-RRE RNA complex. *Science* 273:1547-1551
- Be'langer AS, Caron P, Harvey M, Zimmerman PA, Mehlotra RK, and Guillemette C (2009) Glucuronidation of the antiretroviral drug efavirenz by UGT2B7 and an in vitro investigation of drug-drug interaction with zidovudine. *Drug Metab Dispos* 37:1793–1796.
- Berger EA, Murphy PM, and Farber JM (1999) Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism, and disease. *Annu Rev Immunol* 17:657–700
- Blanch J, Corbella B, Garcia F, et al. (2001) Manic syndrome associated with efavirenz overdose. *Clin Infect Dis* 33(2):270-271
- Blas-Garcia A, Apostolova N, Ballesteros D, et al. (2010) Inhibition of mitochondrial function by efavirenz increases lipid content in hepatic cells. *Hepatology* 52(1):115-25
- Boffito M, Back DJ, Blaschke TF, et. al. (2003) Protein binding in antiretroviral therapies. *AIDS Res Hum Retroviruses* 19:825–835

- Brumme Z, Dong W, Chan K, et al. (2003) Influence of polymorphisms within the CX3CR1 and MDR-1 genes on initial antiretroviral therapy response. *AIDS* 17:201-8
- Burger D, van der Heiden I, la Porte C, et al. Interpatient variability in the pharmacokinetics of the HIV non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor efavirenz: the effect of gender, race, and CYP2B6 polymorphism. *Br J Clin Pharmacol.* 2006;61(2):148_54.
- Carr DF, la Porte CJ, Pirmohamed M, Owen A, and Cortes CP (2010) Haplotype structure of CYP2B6 and association with plasma efavirenz concentrations in a Chilean HIV cohort. *J Antimicrob Chemother* 65:1889–1893
- Cabrera Figueroa S, Iglesias Gómez A, Sánchez Martín A, et. al. (2010) Long-term efficacy and safety of efavirenz dose reduction to 200 mg once daily in a Caucasian patient with HIV. *Clin. Drug. Investig* 30, 405–411
- Center for Disease Control (1981) *Pneumocystis Pneumonia* - Los Angeles. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 31:1-3.
- Center for Disease Control (1982a) Current Trends Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS): Precautions for Clinical and Laboratory Staffs. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 31:577-580.
- Center for Disease Control (1982b) Epidemiologic Notes and Reports *Pneumocystis carinii* Pneumonia among Persons with Hemophilia A. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 31:365-367.
- Center for Disease Control (1983) Current Trends Prevention of Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS): Report of Inter-Agency Recommendations. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 32:101-103.

- Chakrabarti LA, Simon V (2010) Immune mechanism of HIV control. *Current Opinion Immunology* 22(4):488-496
- Chang TKH, Bandiera SM, Chen J (2003) Constitutive androstane receptor and pregnane X receptor gene expression in human liver: interindividual variability and correlation with CYP2B6 mRNA levels *Drug Metab. Dispos.* 31:7–10
- Chantarangsu S, et al. (2011) Genome-wide association study identifies variations in 6p21.3 associated with nevirapine-induced rash. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 53(4):341–348
- Chen J, Sun J, Ma Q, et. al. (2010) CYP2B6 polymorphism and nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor plasma concentrations in Chinese HIV-infected patients. *Ther Drug Monit* 32:573–578
- Chen Y, et al. (2012) Nuclear receptors in the multidrug resistance through the regulation of drug-metabolizing enzymes and drug transporters. *Biochem Pharmacol* 83(8):1112-26
- Chen Z, et al. (2002) Characterization of the Transport Properties of Human Multidrug Resistance Protein 7 (MRP7, ABCC10). *Molecular Pharmacology* 63:351-358
- Ciccarelli N, Fabbiani M, Di Giambenedetto S, et. al. (2011) Efavirenz associated with cognitive disorders in otherwise asymptomatic HIV-infected patients. *Neurology* 7(6):1403–9.
- Clifford DB, Evans S, Yang Y, et al. (2009) Long-term impact of efavirenz on neuropsychological performance and symptoms in HIV-infected individuals (ACTG 5097s). *HIV Clin Trials* 10:343–55.

- Connor RI, Ho DD, (1992) Etiology of AIDS: biology of human retroviruses. In: Devita VT. editor. AIDS etiology, diagnosis, treatment and prevention. Philadelphia: J.B. Lippincott Company 13-85
- Cressey TR e Lallemand M (2007) Pharmacogenetics of antiretroviral drugs for the treatment of HIV-infected patients: an update. *Infect Genet Evol* 7:333-342
- D'Avolio A, Carcieri C, Cusato J, et. al. (2014) Intracellular accumulation of atazanavir/ritonavir according to plasma concentrations and *OATP1B1*, *ABCB1* and *PXR* genetic polymorphisms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 69(11):3061-3066
- Daar ES, Little S, Pitt J et al. (2001) Diagnosis of primary HIV-1 infection. Los Angeles County Primary HIV Infection Recruitment Network. *Ann. Intern. Med.* (SI) 134(1):25-9
- De Cock KM, Jaffe HW e Curran JW (2011) Reflections on 30 years of AIDS. *Emerg Infect Dis* 17:1044-1048.
- Decloedt EH, Maartens G (2013) Neuronal toxicity of efavirenz: a systematic review. *Expert opinion on drug safety* 12(6):841–6
- Decloedt EH, Rosenkranz B, Maartens G, Joska J (2015) Central nervous system penetration of antiretroviral drugs: pharmacokinetic, pharmacodynamic and pharmacogenomic considerations. *Clin. Pharmacokinet* 1-18
- Ding X and Kaminsky LS (2003) Human extrahepatic cytochromes P450: function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 43:149–173.
- Engelman A and Cherepanov (2012) The structural biology of HIV-1 mechanistic and therapeutic insights. *Nature Reviews Microbiology* 10:279-290

- Elens L, Vandercam B, Yombi J, et al. (2010) Influence of host genetics factors on efavirenz plasma and intracellular pharmacokinetics in HIV-1-infected patients. *Pharmacogenomics* 11:1223-34
- Europe Medicines Agency (2014) Efavirenz, resumo das características do medicamento. Europe Medicines Agency 55p
- Fischl MA, et al. (1997) The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. *N Engl J Med* 317(4):185-91
- Fairman K e Matheral B (2000) Evaluating medication adherence: which measure is right for your program? *Strategies* 2:4.
- Fanales-Belasio E, Raimondo M, Suligoi B e Butto S (2010) HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Ann Ist Super Sanita* 46:5-14
- Faucette SR, et al. (2007) Relative activation of human pregnane X receptor versus constitutive androstane receptor defines distinct classes of CYP2B6 and CYP3A4 inducers. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 320:72–80
- Fellay J, Marzolini C, Meaden ER et al. (2002) Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: a pharmacogenetics study. *Lancet* 359, 30–36.
- Franken SP, Strub MP, Hoh F, et. al. (1997) The crystal structure of HIV-1 Nef protein bound to the Fyn kinase SH3 domain suggests a role for this complex in altered T cell receptor signaling. *Structure* 5:1361-1372
- Gallego L, Barreiro P, del Rio R, et al. (2004) Analyzing sleep abnormalities in HIV infected patients treated with efavirenz. *Clin Infect Dis* 38:430-432

- Gallo RC, Sarin PS, Gelmann EP, et al. (1983) Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 220:865-867.
- Gatanaga H, et al. (2007) Successful efavirenz dose reduction in HIV type 1-infected individuals with cytochrome P450 2B6 *6 and *26. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 45(9):1230–1237
- Geyer M, Munte CE, Schorr J, Kellner R, Kalbitzer HR (1999) Structure of the anchor-domain of myristoylated and non-myristoylated HIV-1 Nef protein. *J. Mol. Biol.* 289:123-138
- Gilbert MTP, Rambaut A, Wlasiuk G, et. al. (2007) The emergence of HIV/AIDS in the Americas and beyond. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104:18566-18570.
- Götte M and Wainberg MA (2000) Biochemical mechanisms involved in overcoming HIV resistance to nucleoside inhibitors of reverse transcriptase. *Drug Resist Updat.* 3:30–38.
- Gulnik SV, Suvorov LI, Liu B, et. al. (1995) Kinetic characterization and cross-resistance patterns of HIV-1 protease mutants selected under drug pressure. *Biochemistry* 34:9282–9287.
- Haas DW, Ribaud HJ, Kim RB et al. (2004) Pharmacogenetics of efavirenz and central nervous system side effects: an adult AIDS clinical trials group study. *AIDS* 18, 2391–2400.
- Hammer SM, Katzenstein DA, Hughes MD, et al. (1996) A Trial Comparing Nucleoside Monotherapy with Combination Therapy in HIV-Infected Adults with CD4 Cell Counts from 200 to 500 per Cubic Millimeter. *New England Journal of Medicine* 335:1081-1090

- Hecht M, Harrer T, Buttner M, et al. (2013) Cytotoxic effect of efavirenz is selective against cancer cells and associated with the cannabinoid system. *AIDS*.
- Herman JS, Easterbrook PJ (2001) The metabolic toxicities of antiretroviral therapy. *International Journal of STD & AIDS* 12(9):555–564
- HIV Sequence Compendium 2014 (2014). Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos, New Mexico, 455p
- Hutchinson JF (2001) The Biology and Evolution of HIV. *Annual Review of Anthropology* 30:85-108.
- Jamijian MC and McNicholl IR (2004) Enfuvirtide: First fusion inhibitor for treatment of HIV infection. *Am. J. Health-Syst Pharm* 61:1242-1247
- Julia di Iulio, Fayet A, Arab-Almeddine M, Swiss HIV Cohort Study, et. al. (2009) In vivo analysis of efavirenz metabolism in individuals with impaired CYP2A6 function. *Pharmacogenetics and Genomics* 19:300-309
- Kasim NA, Whitehouse M, Ramachandran C, et al. (2004) Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. *Mol Pharm.* 1(1):85-96.
- Kassahun K, McIntosh I, Cui D, et. al. (2007) Metabolism and disposition in humans of raltegravir (MK-0518), an anti-AIDS drug targeting the human immunodeficiency virus 1 integrase enzyme. *Drug Metab Dispos* 35:1657–1663.
- Kathawala RJ, Wang Y, Charles R, Ashby J, Chen Z (2014) Recent advances regarding the role of ABC subfamily C member 10 (ABCC10) in the efflux of antitumor drugs. *Chinese Journal of Cancer* 33(5):223-230
- Kent WJ, Sugnet CW, Furey TS, et. al. (2002) The human genome browser at UCSC. *Genome Res* 12:996-1006

- Kharasch ED, Campbell S, Stubbert K et al. (2012) Mechanism of efavirenz influence on methadone pharmacokinetics and pharmacodynamics II: hepatic and intestinal CYP2B6, CYP3A and transporter activities. *Clin. Pharmacol. Ther.* 91:673–684
- Kilmarx PH (2009) Global epidemiology of HIV. *Current opinion in HIV and AIDS* 4:240-246.
- Kourtis AP, Bulterys M (2010) Mother-to-child transmission of HIV: pathogenesis, mechanisms and pathways. *Clinics in perinatology* 37(4):721–737
- Kwara A, Lartey M, Sagoe KW, Kenu E, and Court MH (2009b) CYP2B6, CYP2A6 and UGT2B7 genetic polymorphisms are predictors of efavirenz mid-dose concentration in HIV-infected patients. *AIDS* 23:2101–2106.
- Lee HY et al. (2010) Modeling Sequence Evolution in Acute HIV-1 Infection. *J. Theor Biol.* 261(2):341–360
- Liptrott NJ, Pushpakom S, Wyen C, et. al. (2012) Association of *ABCC10* polymorphisms with nevirapine plasma concentrations in the German Competence Network for HIV/AIDS. *Pharmacogenetics Genomics* 22(1):10-19
- Lucas S, Nelson AM (2015) HIV and the spectrum of human disease. *The Journal of Pathology* 235(2):229–241
- Marzolini C, Telenti A, Decosterd LA, et. al. (2001) Efavirenz plasma levels can predict treatment failure and central nervous system side effects in HIV-1-infected patients. *AIDS (London)* 15:71–75
- Marzolini C, Paus E, Buclin T, et al. (2004) Polymorphisms in human MDR1 (Pglycoprotein): recent advances and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther* 75:13-33

- Mathiesen S, Justensen US, Luttichau HR et. al. (2006) Genotyping of CYP2B6 and therapeutic drug monitoring in an HIV-infected patient with high efavirenz plasma concentrations and severe CNS side-effects. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. 38(8):733-5
- Maurin MB, Rowe SM, Blom K, Pierce ME (2002) Kinetics and mechanism of hydrolysis of efavirenz. *Pharm Res*. 19(4):517-521
- Michaud V, et al. (2012) The dual role of pharmacogenetics in HIV treatment: mutations and polymorphisms regulating antiretroviral drug resistance and disposition. *Pharmacological reviews* 64(3):803–833
- Miller AH, Haroon E, Raison CL, Felger JC (2013) Cytokine targets in the brain: impact on neurotransmitters and neurocircuits. *Depress Anxiety* 30(4):297-306
- Ministério da Saúde (2015a) Boletim Epidemiológico HIV AIDS. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, AIDS e Hepatite Virais. Ano IV, nº 1, 100p
- Ministério da Saúde (2014) Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, AIDS e Hepatite Virais. Ano III, nº 1, 216p
- Mitsuya H, et al. (1985) 3'-Azido-3'-deoxythymidine (BW A509U): an antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci U. S. A*. 82(20):7096-100
- Montaner JS et al. (1998) A randomized double-blind trial comparing combinations of nevirapine, didanosine, and zidovudine for HIV-infected patients: the INCAS Trial. Italy, The Netherlands, Canada and Australia Study. *JAMA* 279(12):930-937

- Montessori V, et al. (2004) Adverse effects of antiretroviral therapy for HIV infection. Canadian Medical Association Journal 170(2):229–238
- Mulder LC, Chakrabarti LA, Muesing MA (2002) Interaction of HIV-1 integrase with DNA repair protein hRad18. J. Biol. Chem. 277:27489-27493.
- O'Mahony SM, Myint AM, Steinbusch H, et al. (2005) Efavirenz induces depressive-like behaviour, increased stress response and changes in the immune response in rats. Neuroimmunomodulation 12(5):293-298
- Park SH, Mrse AA, Nevzorov A, Mesleh MF, Oblatt-Montal M, Montal M, Opella SJ (2003) Three-dimensional structure of the channelforming trans-membrane domain of virus protein "u" (Vpu) from HIV-1. J. Mol. Biol. 333: 409- 424
- Péloponèse Jr JM, Grégoire C, Opi S, et. al. (2000) 1H-13C nuclear magnetic resonance assignment and structural characterization of HIV-1 Tat protein. C R Acad. Sci III 323:883-894
- Plantier JC, Leoz M, Dickerson JE, et. al. (2009) A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. Nat. Med. 15(8):871-872
- Pubchem Database (2015) Acesso em 02 de fevereiro de 2015 <https://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/64139>
- Puzantian T (2002) Central nervous system adverse effects with EFV: case report and review. Pharmacotherapy 22:930–933
- Rakhmanina NY, van den Anker JN (2010) Efavirenz in the therapy of HIV infection. Expert Opin Drug Metab Toxicol 6(1):95-103
- Ribaud HJ, et al. (2010) Effect of CYP2B6, ABCB1, and CYP3A5 polymorphisms on efavirenz pharmacokinetics and treatment response: an AIDS Clinical Trials Group study. The Journal of infectious diseases 202(5):717–722.

- Ridky T and Leis J (1995) Development of drug resistance to HIV-1 protease inhibitors. *J Biol Chem* 270:29621–29623
- Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, et. al. (2000) HIV-1 nomenclature proposal. *Science* 288(5463):55-56
- Robertson K, Liner J, Meeker RB (2012) Antiretroviral neurotoxicity. *J Neurovirol* 18(5):388-99
- Rotger M, Colombo S, Furrer H, et. al. (2005) Influence of CYP2B6 polymorphism on plasma and intracellular concentrations and toxicity of efavirenz and nevirapine in HIV-infected patients. *Pharmacogenet Genomics* 15:1–5.
- Sánchez Martín A, Cabrera Figueroa S, Cruz Guerrero R, et. al. (2013) Impact of pharmacogenetics on CNS side effects related to efavirenz. *Pharmacogenomics* 14(10):1167–1178
- Sánchez Martín A, García-Berrocal B, Cabreira Figueroa S, et. al. (2014) Dose reduction of efavirenz: an observational study describing cost–effectiveness, pharmacokinetics and pharmacogenetics. *Pharmacogenomics* 15(7):997-1006
- Sleasman JW e Goodenow MM (2003) 13. HIV-1 infection. *J Allergy Clin Immunol* 111:S582-592
- Sarfo FS, Zhang Y, Egan D et al. (2014) Pharmacogenetic associations with plasma efavirenz concentrations and clinical correlates in a retrospective cohort of Ghanaian HIV-infected patients. *The Journal of antimicrobial chemotherapy* 69(2):491–499
- Schulz KF e Grimes DA (2002) Case-control studies: research in reverse. *Lancet* 359:431-434.
- Shelby MK, Klaassen CD (2006) Induction of rat UDP-glucuronosyltransferases in liver and duodenum by microsomal enzyme inducers that activate various transcriptional pathways *Drug Metab Dispos.* 34:1772–1778

- Simon F, Mauclore P, Roques P, et. al. (1998) Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. *Nat. Med.* 4(9):1032-1037
- Stanley BJ, Ehrlich ES, Short L, Yu Y, Xiao Z, Yu XF, Xiong Y (2008) Structural insight into the human immunodeficiency virus Vif SOCS box and its role in human E3 ubiquitin ligase assembly. *J Virol* 82: 8656-8663.
- Streck EL, Scaini G, Rezin GT, et al. (2008) Effects of the HIV treatment drugs nevirapine and efavirenz on brain creatine kinase activity. *Metab Brain Dis* 23(4):485-92
- Streck EL, Ferreira GK, Scaini G, et al. (2011) Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors efavirenz and nevirapine inhibit cytochrome C oxidase in mouse brain regions. *Neurochem Res* 36(6):962-6
- Sutterlin S, Vogele C, Gauggel S (2010) Neuropsychiatric complications of efavirenz therapy: suggestions for a new research paradigm. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 22:361–9
- Swart M, Whitehorn H, Ren Y, Smith P, Ramesar RS, Dandara C (2012) PXR and CAR single nucleotide polymorphisms influence plasma efavirenz levels in South African HIV/AIDS patients. *BMC Med Genet* 13:112.
- Swart M, et al. (2013) High predictive value of CYP2B6 SNPs for steady-state plasma efavirenz levels in South African HIV/AIDS patients. *Pharmacogenetics and genomics* 23(8):415–427
- Swerdlow RH (2011) Brain aging, alzheimer's disease, and mitochondria. *Biochim Biophys Acta* 1812(12):1630-9
- Tang MW e Shafer RW (2012) HIV-1 Antiretroviral Resistance: Scientific Principles and Clinical Applications. *Drugs* 72

- Tovar-y-Romo LB, Bumpus NN, Pomerantz D, et al. (2012) Dendritic spine injury induced by the 8-hydroxy metabolite of efavirenz. *J Pharmacol Exp Ther* 343(3):696-703
- Tozzi V (2010) Pharmacogenetics of antiretrovirals. *Antiviral research* 85(1):190–200
- UNAIDS (2015) How AIDS Changed Every Thing, MDG 6: 15 years, 15 lessons of hope from the AIDS response. UNAIDS. n° 1, 548p
- Usach I, Melis V, Peris JE (2013) Review article Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors: a review on pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and tolerability. *Journal of the International AIDS Society* (16):1–14
- Vella S, Schwartlander B, Sow SP, Eholie SP e Murphy RL (2012) The history of antiretroviral therapy and of its implementation in resource-limited areas of the world. *AIDS* 26:1231-1241
- von Giesen HJ, Köller H, Theisen A, Arendt G (2002) Therapeutic effects of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors on the central nervous system in HIV-1-infected patients. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 29:363–367
- Votteler J e Schubert U (2008) Human Immunodeficiency Viruses: Molecular Biology. In: Mahy BWJ e Van Regenmortel HV (EE.) *Encyclopedia of Virology*. Elsevier Science & Technology Books 517-525
- Walensky RP et al. (2006) The survival benefits of AIDS treatment in the United States. *J Infect Dis.* 194(1):11-9
- Wang H, Lecluyse EL (2003) Role of orphan nuclear receptors in the regulation of drug-metabolising enzymes. *Clin Pharmacokinet* 42(15) 1331-1357
- Wang H and Tompkins LM (2008) CYP2B6: new insights into a historically overlooked cytochrome P450 isozyme. *Curr Drug Metab* 9:598–610

- Ward BA, Gorski JC, Jones DR, Hall SD, Flockhart DA, Desta Z (2003) The cytochrome P450 2B6 (CYP2B6) is the main catalyst of efavirenz primary and secondary metabolism: implication for HIV/AIDS therapy and utility of efavirenz as a substrate marker of CYP2B6 catalytic activity. *J Pharmacol Exp Ther* 306:287–300.
- Watts JM, Dang KK, Gorelick RJ, et. al. (2009) Architecture and secondary structure of an entire HIV-1 RNA genome. *Nature* 460:711-716
- Wecker K, Morellet N, Bouaziz S, Roques BP (2002) NMR structure of the HIV-1 regulatory protein Vpr in H₂O/trifluoroethanol. Comparison with the Vpr N-terminal (1-51) and C-terminal (52-96) domains. *Eur. J. Biochem.* 269:3779-3788
- Weiss RA (2002) HIV receptors and cellular tropism. *IUBMB Life* 53:201–205
- Willbold D, Hoffmann S, Rosch P (1997) Secondary structure and tertiary fold of the human immunodeficiency virus protein U (Vpu) cytoplasmic domain in solution. *Eur. J. Biochem.* 245: 581-588
- Winzer R, Langmann P, Zilly M, et al. (2003) No influence of the P-glycoprotein genotype (MDR1 C3435T) on plasma levels of lopinavir and efavirenz during antiretroviral treatment. *Eur J Med Res* 8:531-4
- Wortham M, Czerwinski M, He L et al. (2007) Expression of constitutive androstane receptor, hepatic nuclear factor 4 a, and P450 oxidoreductase genes determines interindividual variability in basal expression and activity of a broad scope of xenobiotic metabolism genes in the human liver. *Drug Metab Dispos.* 35:1700–1710

- Wyen C, et al. (2011) Cytochrome P450 2B6 (CYP2B6) and constitutive androstane receptor (CAR) polymorphisms are associated with early discontinuation of efavirenz-containing regimens. *J Antimicrob Chemother* 66(9):2092-8
- Wynn H, Brundage R, Fletcher C (2002) Clinical implications of central nervous system penetration of antiretroviral drugs. *CNS Drugs* 6, 595–609
- Zhang SF, Hennessey T, Yang L, et al. (2011) Impaired brain creatine kinase activity in huntington's disease. *Neurodegener Dis* 8(4):194-201
- Zhu M, Kaul S, Nandy P, Grasela DM, and Pfister M (2009) Model-based approach to characterize efavirenz autoinduction and concurrent enzyme induction with carbamazepine. *Antimicrob Agents Chemother* 53:2346–2353.

9. Apêndice – A

Caracterização dos Efeitos Neuropsiquiátricos

Tonturas	Sensação de perturbação do equilíbrio corporal, podendo ter uma sensação de desorientação espacial do tipo rotatório.
Cefaleia	Dor na cabeça, podendo ser aguda ou crônica.
Depressão	Desordem psiquiátrica que se caracteriza por humor deprimido, acentuada diminuição do prazer, abatimento excessivo, acometendo os portadores, de maneira episódica, recorrente ou crônica.
Insônia	Dificuldade de iniciar ou manter o sono, ou o relato, por parte do paciente, de um sono não reparador.
Sonolência	Distúrbio do sono onde o portador possui dificuldade de se manter em vigília durante o dia
Alucinações	Percepção de algo sem objeto. Pode ser auditivas, visuais, táteis, gustativas e olfativas, entre outras.
Sonhos anormais (pesadelos)	Sonhos vívidos ou pesadelos que se caracterizam por sonhos agitados que trazem sensações fortes, tais como medo, angústia, ansiedade extrema, pode vir acompanhado de opressão torácica e dispnéia, terminando com um despertar agitado.
Perturbações do sono (distúrbios do sono)	Conjunto de distúrbios que afetam o sono. Neste contexto, sonolência, insônia e pesadelos não foram incluídos.
Perda de memória	Caracteriza-se, neste sentido, pelo esquecimento incomum em grau moderado em que o portador possui dificuldade de recordar fatos recentes bem como lembrar memórias do passado.
Tristeza	Manifestação inerente ao ser humano, caracterizado pela baixa autoestima, sensação de estar abatido. Pode ser de ordem natural ou patológica, moderada ou profunda.
Ansiedade	Estado psíquico de apreensão ou medo devido à antecipação de uma situação desagradável, acompanhado de sintomas somáticos de tensão, neste contexto, de ordem excessiva e patológica.
Irritabilidade	Consiste no aumento exagerado a estímulos do ambiente e uma

	baixa tolerância a incômodos, nesse contexto, de ordem patológica.
Pensamentos suicidas	Neste contexto, transtorno neuropsiquiátrico que leva o portador a ter pensamentos em cometer suicídio.
Hiperatividade	Hiperatividade mental e motora, com déficit de atenção de maneira anormal que interfere no bem estar físico e mental.
Convulsão	Contrações musculares involuntárias de parte ou de todo o corpo decorrentes de ordem neurológica.
Déficit cognitivo	Distúrbio neuropsiquiátrico caracterizado pela baixa capacidade de processar as informações, aprendizagem e declínios nas áreas cerebrais responsáveis pela cognição.
Fadiga	Sensação de desgaste, cansaço anormal sem causa aparente, podendo ser crônica e patológica.
Hiperhidrose	Condição patológica caracterizada pela transpiração anormalmente aumentada.
Parestesias	São sintomas sensoriais anormais, caracterizado por ardência ou formigamento ou sensação de frio ou calor, sem haver estimulação prévia.
Fotofobia	Sensação excessiva de sensibilidade ou aversão a qualquer tipo de luz.
Fonofobia	Transtorno psicológico caracterizado pelo medo exagerado ou irracional de barulhos, inclusive os sons normais, como o da própria voz, que trazem uma série de desconfortos no indivíduo

10. Apêndice – B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa: Fatores Genéticos Humanos Envolvidos no Curso da Infecção pelo HIV: Transmissão Vertical, Imunidade e Resposta à Terapia Antirretroviral.

Pesquisador responsável

Antonio Victor Campos Coelho

Local de trabalho: Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA)

Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, Recife, PE. CEP: 50670-901.

Telefone: 2101-2542
antonio.victor@ufpe.br

Comitê de Ética em Pesquisa

Rua dos Coelhos, 300, Boa Vista, Recife, PE. Diretoria de Pesquisa, Prédio Orlando Onofre, 1º Andar.

Funcionamento: 2ª a 6ª feira, 7h às 11h30/13h30 às 16h.

Telefone: 2122-4756
comitedeetica@imip.org.br

Médico supervisor da pesquisa

Luiz Cláudio Arraes de Alencar (IMIP)

lularraes@hotmail.com

Convidamos você a participar de uma pesquisa que estamos realizando sobre diferenças genéticas envolvidas no comportamento do HIV no organismo. Algumas pessoas combatem melhor o vírus que outras durante a infecção; outras respondem melhor à terapia com os antirretrovirais. Além disso, algumas crianças adquirem o vírus durante o parto ou amamentação (transmissão vertical), enquanto outras não. Estamos fazendo essa pesquisa para tentar descobrir se diferenças genéticas expliquem essa diferença entre as pessoas convivendo com o HIV e pretendemos recrutar 400 voluntários ao todo. Essa pesquisa é importante porque poderá contribuir para que no futuro os médicos melhorem os tratamentos contra o HIV. Além disso, você poderá solicitar aos pesquisadores que comuniquem os resultados a você e a seu médico para que ele avalie se você obterá benefícios com as descobertas.

Com sua autorização, gostaríamos de realizarmos entre uma e cinco coletas de pequenas quantidades do seu sangue (no máximo 8 mL por coleta), colhidas durante os exames de rotina de acompanhamento da infecção pelo HIV. Caso sejam necessárias mais de uma coleta, elas serão feitas a cada três ou quatro meses, de acordo com a rotina de suas consultas. Solicitamos também a sua autorização para utilizar dados do prontuário, como idade que iniciou o acompanhamento médico e os resultados dos seus últimos exames de rotina para avaliar o controle do HIV. Como a Genética está em constante evolução, é possível que novas pesquisas além desta sejam realizadas com suas informações e material biológico armazenados. Caso isso ocorra, os pesquisadores entrarão em contato com o comitê de ética e com você para solicitar nova autorização.

Informamos que o material contribuído por você será armazenado no Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA), que fica na Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Seu material não será enviado a outros pesquisadores brasileiros ou estrangeiros, permanecendo apenas no LIKA. O endereço do LIKA e as formas de contato com os pesquisadores estão no começo desse documento.

Informamos que os riscos que você corre ao participar da pesquisa são apenas sintomas provocados pela coleta do sangue como: vermelhidão e dor no braço no local da coleta e enjoo. Além disso, todas as suas informações pessoais estarão seguras. Nenhuma pessoa fora da pesquisa terá acesso a elas.

A participação na pesquisa é totalmente voluntária. Não haverá nenhum gasto pela sua participação, não recebendo cobrança com o que será realizado. Você também não receberá nenhum pagamento ou benefício financeiro pela sua participação. Da mesma forma, não haverá nenhum prejuízo a você caso não queira participar ou desistir de participar desta pesquisa.

Caso você se sinta prejudicado(a) pelo andamento da pesquisa, asseguramos que você receberá todas as assistências cabíveis neste hospital, incluindo o direito de solicitar indenização aos pesquisadores por eventuais danos. Caso você possua alguma dúvida acerca dos objetivos do estudo, por favor, entre em contato com os responsáveis pela pesquisa. Além disso, se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre esta pesquisa, também pode entrar em contato com o comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do IMIP (CEP-IMIP), que objetiva defender os interesses dos participantes, respeitando seus direitos e contribuir para o desenvolvimento da pesquisa desde que atenda às condutas éticas.

Eu, _____
_____ (**nome completo**) compreendi as informações repassadas e autorizo que seja realizada a avaliação genética da amostra de sangue coletada, e concordo que os dados obtidos sejam utilizados para pesquisa. Declaro que fui informado(a) pela equipe do pesquisador Sergio Crovella sobre os objetivos da pesquisa e estou consciente de que:

1. Concordei em participar da pesquisa sem nenhum tipo de pressão;
2. Posso a qualquer momento entrar em contato por telefone com o pesquisador se tiver qualquer dúvida sobre os procedimentos, riscos e benefícios da pesquisa;
3. Posso a qualquer momento desistir de participar da pesquisa, sem que isso prejudique meu atendimento no hospital;
4. O pesquisador poderá ter acesso ao meu prontuário e que minhas informações pessoais serão mantidas em sigilo;
5. Recebi uma cópia deste documento.

Assinatura do Voluntário	
Assinatura da Testemunha	Assinatura da Testemunha
Assinatura do Pesquisador Responsável	
Número do prontuário	Código de amostra
Inclusão no Braço (Transmissão vertical do HIV) C do estudo?	
SIM ()	NÃO ()
Se SIM, aplicar o termo de assentimento para a coleta do(a) filho(a) da paciente.	

11. Anexo A

Instituto de Medicina Integral
Prof. Fernando Figueira
Escola de Pós-graduação em Saúde Materno Infantil
Instituição Civil Filantrópica



DECLARAÇÃO

Declaro que o projeto de pesquisa nº 3629 - 13 intitulado “Fatores Genéticos humanos envolvidos no curso da Infecção pelo HIV: Transmissão vertical, imunidade e resposta à terapia antirretroviral.” apresentado pelo (a) pesquisador (a) **Antonio Victor Campos Coelhos** foi APROVADO pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP, em reunião ordinária de 13 de novembro de 2013

Recife, 18 de novembro de 2013


Dr. José Eulálio Cabral Filho
Coordenador do Comitê de Ética
em Pesquisa em Seres Humanos do
Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira

UTILIDADE PÚBLICA MUNICIPAL - Lei. 9851 de 08/11/67
UTILIDADE PÚBLICA ESTADUAL - Lei. 5013 de 14/05/64
UTILIDADE PÚBLICA FEDERAL - Dec. 86238 de 30/07/81
INSCRIÇÃO MUNICIPAL - 05.897-1
INSCRIÇÃO ESTADUAL - Isento
CNPJ: 10.988.301/0001-29

Rua dos Coelhos, 300 Boa Vista
Recife - PE - Brasil - CEP: 50.070-550
PABX: (81) 2122.4100
Fax: (81) 2122.4722 Cx. Postal 1393
e-mail: imip@imip.org.br
www.imip.org.br

12. ANEXO B

EFV-containing AZT regimen and higher risk of dizziness occurrence in HIV-infected patients in Brazilian cohort study.

Josué Jeyzon de L. S. Valeriano^{a,d}, Antonio V. C. Coelho^a, Ronald R. de Moura^{a,d}, Luiz Cláudio A. de Alencar^{b,d}, Lucas A. C. Brandão^{c,d}, Sérgio Crovella^{a,d}, Rafael L. Guimarães^{a,d}

a) Department of Genetics, Federal University of Pernambuco. Avenida da Engenharia, Cidade Universitária, Recife, PE (Brazil). Postal code: 50740-600. Tel: +55 81 2126 8522.

b) Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP). Rua dos Coelho, 300, Boa Vista, Recife, PE (Brazil). Postal code: 50070-550. Tel: +55 81 2122 4100

c) Department of Pathology, Federal University of Pernambuco. Avenida Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, Recife, PE (Brazil). Postal code: 50670-901. Tel: +55 81 2126 8545.

d) Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami (LIKA). Avenida Prof. Moraes Rego, S/N, Cidade Universitária, Recife, PE (Brazil). Postal code: 50670-901. Tel: +55 81 2126 8485

Corresponding author: Josué Jeyzon de Lima Soares Valeriano. Department of Genetics, Federal University of Pernambuco. Avenida Prof. Moraes Rego, Cidade Universitária, Recife, PE (Brazil). Postal code: 50740-600. Tel: +55 81 2126 8522. Email: jeyzon_[@live.com](mailto:jeyzon_@live.com)

Introduction

Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART), the combination of three or more antiretroviral drugs, revolutionized the treatment against HIV infection, transforming a fatal disease into a manageable chronic disease [1-3]. With the decrease in mortality numbers due to treatment efficacy, factors such as HAART adverse effects became more relevant, because they affect the quality of life of people living with HIV/AIDS, may impose health risks to patients, undermine adherence to therapy which is crucial to treatment success [4-7].

It is estimated that 25% of people living with HIV/AIDS starting therapy interrupt it due to treatment failure, a consequence of irregular use and/or drug toxicity [3, 5]. Since antiretroviral treatment is lifelong, it is difficult to measure the damage of long-term adverse effects. Thus, reducing adverse effects associated with prolonged use of antiretroviral drugs became the new challenge in recent years. Among the adverse effects caused by antiretrovirals, there are the neuropsychiatric effects, which can last the long run, and are mostly associated with the use of Efavirenz (EFV) [5, 7-8].

EFV is a very effective non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI), used as first-line HAART drug regimen in many countries [9-12]. It is a neuroactive drug due to a high accessibility to central nervous system, because it easily crosses the blood-brain barrier [13-14]. Thus, it is associated with a high occurrence of neuropsychiatric effects, reported in 40% to 70% of patients. This may lead to poor therapy adherence, irregular drug use, and self-discontinuation in the first two weeks of treatment in 13% of cases [3, 8, 15]. These effects are related to elevated plasma concentrations of EFV and occur during the first days or weeks of treatment and then disappear [3, 13, 16-18]. However, recent studies show that these effects can last a long time and certain adverse effects may even have their frequency increased with continued use of EFV [7, 19]. The most frequent are: headaches, dizziness, insomnia, nightmares, somnolence, irritability, anxiety, arms and legs numbness, tremors, hyperhidrosis [3, 20]. Some patients may develop more severe neurological effects such as depression, psychosis, mania, suicidal thoughts, paranoia and cognitive impairment [3, 21].

Thus, the objective of this study was to evaluate the frequency of reported neuropsychiatric effects during EFV-containing treatment and whether there are significant differences in the distribution of the most common effects over time, when controlling for sex and distinct EFV-containing HAART regimens.

Material and Methods

Study design

HIV-positive adult patients at Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP) in Recife, Pernambuco state, Northeast Brazil, under EFV-containing HAART regimens were invited for the study. Inclusion criteria were: older than 18 years; received treatment with EFV at a standard oral dose of 600 mg once a day; optimal therapy adherence (estimated indirectly by medication possession ratio (MPR) [22], calculated by registering monthly antiretroviral drugs withdrawal date records at IMIP pharmacy, it measures the percentage of time a patient has access to HAART medications. An optimal

adherence was defined as MPR $\geq 95\%$); no reported history of neurological diseases or neuropsychiatric treatment. Exclusion criteria were: virological treatment failure; co-infection with hepatitis B or C viruses and co-medication with drugs known to be inducers or inhibitors of EFV metabolism. The study design was approved by the IMIP research ethics committee (protocol number 3629-13), and all patients consented to their participation through interviews and signed a written informed consent form.

A retrospective analysis of medical records of these patients was made from September 2014 to July 2015 to collect clinical data regarding EFV-related neuropsychiatric adverse effects occurrence and severity. The patients were characterized according to HAART regimens (Zidovudine (AZT)/Lamivudine (3TC)/EFV combination compared to Tenofovir (TDF)/3TC/EFV combination). These patients were classified according to EFV-related adverse effects occurrence: patients that discontinued EFV-containing regimens due to neuropsychiatric adverse effects versus patients who did not. Another classification was performed with these same patients according to adverse effect period: patients that reported neuropsychiatric adverse effects in the first four weeks of therapy versus patients that reported neuropsychiatric adverse effects after the first four weeks of therapy. This classification was made to evaluate because of available evidence claiming that the neuropsychiatric adverse effects reported in therapy with EFV last between two to four weeks and disappear soon after [3, 18].

Neuropsychiatric adverse effects were reported by patients at routine clinical visits the reported EFV-related effects were: dizziness, headache, hallucinations, insomnia, somnolence, abnormal dreams (nightmares), sleep disturbances, photophobia, phonophobia, memory ailments, sadness, depression and suicidal thoughts, anxiety, irritability, hyperactivity, convulsions, hyperhidrosis, paresthesia and fatigue. Other non-specific neuropsychiatric effects that caused EFV intolerance were simply described as “intolerance to EFV”.

Fifty patients received HAART regimens without EFV - AZT/3TC/Lopinavir (LPV)/Ritonavir (R), for example. These patients were included in a second analysis in order to evaluate the relationship of

neuropsychiatric effects with EFV when compared to HAART regimen AZT/3TC/EFV.

The third sub analysis evaluated whether there are any significant differences in the occurrence of neuropsychiatric adverse effects when comparing AZT use versus TDF use in regimens not-containing EFV, such as AZT/3TC/LPV/R versus TDF/3TC/LPV/R, for example.

Demographical and clinical evaluations

In the analysis of medical records, information from queries in the period of HAART containing EFV was collected, including the date of each event: the period given HAART regimens. Demographic variables (sex and age at start of treatment with EFV) and clinical (viral load and CD4+ T lymphocyte counts during the treatment period with EFV) were collected.

Statistical analysis

Statistical analyzes were performed by R software, version 3.2.2 for Windows. Fisher exact test was used to test the relationship between sex and EFV use and neuropsychiatric effects occurrence risk. Odds ratios (OR) and their respective 95% confidence intervals (95% CI) were calculated.

Additionally, a survival analysis was used to evaluate if two distinct EFV-containing HAART regimens (AZT/EFV combination or TDF/EFV combination) differ significantly in regards to distribution of frequent neuropsychiatric effects over therapy duration in our study cohort. This methodology was also used to assess whether sex influenced adverse effects occurrence over time. Therapy duration was registered in weeks and we retrospectively followed up each patient medical record until the report of any neuropsychiatric effect under review. Log-rank test was used for univariate survival analyses and Cox proportional hazards regression modeled the contribution of each variable in modulation the risk of EFV-related neuropsychiatric adverse effects. Hazards ratios (HR) and their 95% CI were calculated. The level of statistical significance for all analysis was set at $\alpha = 0.05$.

Results

Study population

A total of 162 patients met all the criteria and were included in the analysis. Demographical and Clinical characteristics of the patients are summarized in Table 1. Follow-up time varied between 1.4 weeks and 705 weeks (approximately 13.5 years), with mean follow-up time of 140 weeks (approximately 3 years). Furthermore, most had a good clinical evolution because the mean CD4+ lymphocyte cell count during EFV-containing HAART was about 494.5 cells/ul and over 90% of patients had an undetectable (<40 copies/ml) plasma HIV load. 22% of the patients who had neuropsychiatric effects had detectable viral load peaks interspersed with undetectable viral load periods. 63% of patients (n = 102) were therapy naïve at the beginning of therapy with EFV. The follow-up was equivalent to EFV-containing HAART duration.

Table 1: Demographic and clinical characteristics of study population, (n = 162).

Characteristics	Value
Age at EFV-containing HAART start (mean years)	32.3
Sex - n (% female)	87 (53.7%)
Therapy Naïve at EFV-containing HAART start n - (%)	102 (63%)
Duration mean of EFV-containing HAART in weeks (minimum and maximum)	140 (1.4 - 705.1)
Duration mean of AZT/3TC/EFV therapy in weeks (minimum and maximum)	144.6 (1.4 - 705.1)
Duration mean of TDF/3TC/EFV therapy in weeks (minimum and maximum)	73 (1.5 - 398.4)
Duration of EFV-containing HAART until discontinuation due to neuropsychiatry adverse effects occurrence in weeks (minimum and maximum)	51.8 (1.4 - 219)
CD4+ T cell mean counts (cells/ul) during EFV-containing HAART	494.5
Undetectable plasma viral load (%)	92%
Patients who had neuropsychiatric effects and had detectable viral load peaks interspersed with undetectable viral load periods (%).	22%

Neuropsychiatric adverse effects occurrence

One hundred twenty-seven patients used AZT/3TC/EFV combination regimen, fifty patients used TDF/3TC/EFV regimen and seven patients used other EFV-containing regimens (Figure 1A). It is noteworthy that there were twenty patients which used the two EFV-containing regimens and one patient used the three different EFV-containing regimens at different times within the treatment period. Among patients that received AZT/3TC/EFV regimen, 55.1% (n = 70) reported EVF-related neuropsychiatric adverse effects. Among patients which received TDF/3TC/EFV regimen, the same was reported in 32% (n = 16) (Figure 1B).

50.6% (n = 82) of patients had some neuropsychiatric effects during EFV therapy (Figure 1B). Among these, the most common was dizziness in 24.1% (n = 39) of the patients, followed by headache in 13% (n = 21); depression in 10.5%, (n = 17) and insomnia in 8.6% (n = 14) of the patients. Least common effects, had frequency $n \leq 10$, such as: sadness, anxiety, sleep disturbance, paresthesia, abnormal dreams, somnolence, irritability, hallucinations, photophobia and fatigue. Other unspecific reported effects reported as “EFV intolerance” occurred in 6.2% of patients (n = 10 cases). Adverse effects with very low frequency included phonophobia, memory loss, suicidal thoughts, hyperactivity, convulsion and cognitive impairment all had frequency $n \leq 3$. Hyperhidrosis was not reported in our cohort. The frequency of neuropsychiatric effects is summarized in Figure 1C.

Among eighty-two patients who had neuropsychiatric effects related to EFV, 28% (n = 23) had the EFV-containing regimen discontinued after the occurrence of neuropsychiatric adverse effects (Figure 1D). They represent 14.2% of all patients who were ever treated with EFV. AZT/3TC/EFV was the most discontinued regimen, with 25.7% of the cases (n = 18). TDF/3TC/EFV discontinuation occurred in 25% (n = 4) of the cases.

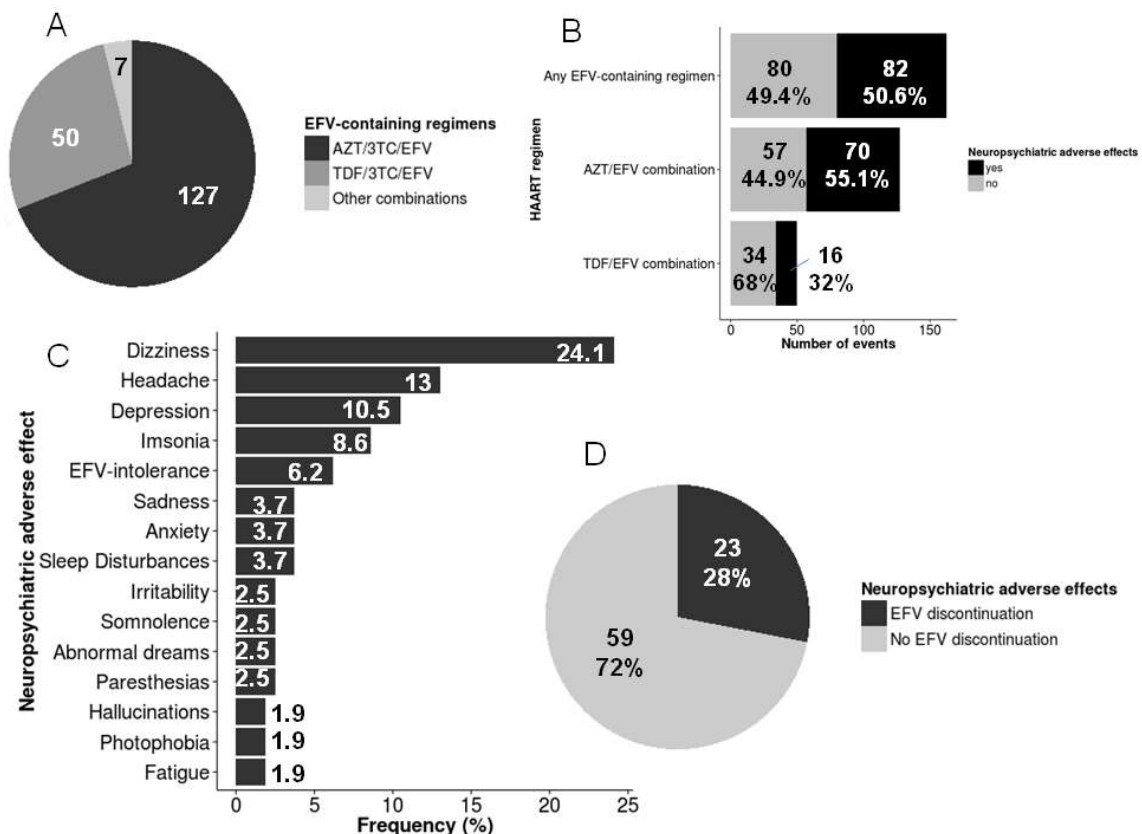


Figure 1. (A) Distribution patients by EFV-containing regimens. AZT (Zidovudine); 3TC (Lamivudine); EFV (Efavirenz); TDF (Tenofovir). (B) Frequency of neuropsychiatric adverse effects in patients treated with Efavirenz, stratification by HAART regimen. (B and C) Frequency of Neuropsychiatric-effects in patients treated with EFV. (D) Frequency EFV-discontinuation regimen due to neuropsychiatric adverse effects.

Regarding the frequency of neuropsychiatric adverse effects before or after the first four weeks of therapy with EFV, dizziness was the only effect it had approximate occurrence of distribution in these two periods. Headache, with 86% of events ($n = 18$), insomnia, 78.5% ($n = 11$) and depression, 100% ($n = 17$), had occurrence of effects more frequent after the first four weeks of treatment.

Among the 50 patients that received AZT/3TC/LPV/R regimen, 6% ($n = 3$) reported dizziness; whereas 18 patients which received TDF/3TC/LPV/R regimen, 11% ($n = 2$) reported this effect.

Univariate statistical analysis results

We observed that EFV use was associated with a nine-fold higher risk, of neuropsychiatric adverse effects occurrence (OR = 8.9; 95% CI: 3.4 - 27.4; p-value <<0.0001).

There were no significant differences between AZT use or TDF use and dizziness occurrence (OR = 1.93, 95% CI = 0.14-18.54, p-value = 0.6).

The occurrence of reported neuropsychiatric effects in patients who received EFV was nearly twice as more common in women when compared to men (OR = 2.2; 95% CI = 1.13 - 4.4; p-value = 0.017).

Survival analysis results

Survival analyses were used for assessing dizziness, depression and insomnia occurrence, because they were the most frequent in our cohort. In regards to dizziness occurrence, the log-rank test showed that there were significant differences in the frequency of dizziness occurrence when comparing AZT/3TC/EFV use to TDF/3TC/EFV use (Log-rank $\chi^2 = 4.5$; p-value = 0.03). The Cox regression, showed that AZT/EFV combination is associated with 2.7 times higher risk for dizziness occurrence when compared to TDF/EFV combination (HR = 2.7; p-value = 0.04) (Table 2). Distinct HAART regimens did not influence on depression (Log-rank $\chi^2 = 1.9$; p-value = 0.17; HR = 3.7; p-value = 0.2) nor insomnia reports (Log-rank $\chi^2 = 1.1$; p-value = 0.3; HR = 0.56; p-value = 0.3).

The Log-rank test showed that there were significant differences in the frequency of depression occurrence when comparing both sexes (Log-rank $\chi^2 = 4.4$; p-value = 0.03) Feminine sex was associated with higher risk to depression (HR = 3.5; p-value: 0.05). There was no significant influence of sex in dizziness (Log-rank $\chi^2 = 0.6$; p-value = 0.45; HR = 1.3; p-value = 0.45) and insomnia (Log-rank $\chi^2 = 0.1$; p-value = 0.77; HR = 1.17; p-value = 0.77) effects occurrence. Survival analysis results are summarized on Table 2.

Table 2: Survival analysis results for dizziness, depression and insomnia occurrence.

Risk factor	Dizziness occurrence, n (%)	Log-rank test (p-value)	HR [95% CI] (p-value)
TDF/3TC/EFV (n=50)	5 (10.0)	4.5 (0.03)	reference
AZT/3TC/EFV (n=127)	34 (26.7)		2.7 [1.04-6.88] (0.04)
Sex (male, n=74)	16 (21.6)	0.6 (0.45)	reference
Sex (female, n=86)	23 (26.7)		1.3 [0.68-2.43] (0.45)
Depression occurrence, n (%)			
TDF/3TC/EFV (n=50)	1 (2.0)	1.9 (0.17)	reference
AZT/3TC/EFV (n=127)	15 (11.8)		3.7 [0.5-28.8] (0.2)
Sex (male, n=74)	3 (4.0)	4.4 (0.03)	reference
Sex (female, n=86)	13 (15.1)		3.5 [1.0-12.4] (0.05)
Insomnia occurrence, n (%)			
TDF/3TC/EFV (n=50)	5 (10.0)	1.1 (0.3)	reference
AZT/3TC/EFV (n=127)	9 (7.0)		0.56 [0.18-1.69] (0.3)
Sex (male, n=74)	6 (8.0)	0.1 (0.77)	reference
Sex (female, n=86)	8 (9.3)		1.17 [0.4-3.4] (0.77)

Discussion

The frequency of patients with neuropsychiatric adverse events reported on treatment with EFV this study (50.6%) is in accordance with previous studies in different populations other than Brazilian population. For example, Decloedt e Maartens reported that neuropsychiatric effects affect about 68% of EFV-receiving patients [8]. In other studies, the frequencies of patients with such effects range from 40% to 70% [13, 17], a high proportion of patients despite the effectiveness of the drug [7, 8, 13], which shows the importance of studying the distribution of those neuropsychiatric effects and how minimize these effects in patients receiving therapy with EFV. It is noteworthy that these symptoms occurred despite good clinical outcomes of patients - undetectable viral load at 92% of patients; and CD4 + lymphocyte T cell counts is 494 cells/ul.

In our cohort, 28% of patients discontinued EFV-containing regimens, despite the high frequency of neuropsychiatric effects. The continuity of neuropsychiatric effects favors to irregular use of therapy and, consequently, treatment failure [7, 8]. We observed that 22% of the patients who had neuropsychiatric effects had detectable viral load peaks interspersed with undetectable viral load periods, which may be consequence of the irregular use of HAART because of an underlying adverse effect. The literature states that the most frequent neuropsychiatric effects reported in therapy with EFV are: dizziness, headache, insomnia, abnormal dreams, irritability, somnolence, paresthesia, anxiety and depression [3, 7, 8]. These effects were also very frequent in our cohort [7, 23, 24]. Several studies have reported that these symptoms occur during the first two to four weeks of treatment and then disappear [3, 18]. However, we observed that of headache, insomnia and depression frequently occurred after the first four weeks of treatment. Our results are consistent with the previous evidence that neuropsychiatric effects may last longer in some patients [7]. Michaud et. al. reported that some patients can develop more serious effects such as psychosis, mania, suicidal thoughts and depression more severely at long term [3].

Clifford et. al. found that patients using EFV for three years had increased levels of abnormal dreams and anxiety peaks [19]. Ciccarelli et al., found that 47% of patients using EFV for over a year had cognitive impairment [21].

We observed that the incidence of neuropsychiatric effects in the treatment with EFV was about twice more common in women. Specifically for depression, our survival analysis showed that women have more risk to EFV-related depression.

This is in agreement with previous evidence. Burger et. al. found that the mean plasma concentration of EFV was 30% higher in women than in men [25], possibly due to lower EFV clearance in women when compared to men [26]. Despite the differences in EFV-plasma-concentrations found in both sexes, is possible that these differences are not sufficient to suggest dose adjustments in regards to sex [27].

In our cohort, EFV was nine times more associated with neuropsychiatric adverse effects than protease inhibitors LPV/R combination when used with

AZT + 3TC backbones. This result is consistent with the literature and also suggests that although AZT has been associated with headache neuropsychiatric effects [5], the impact of the EFV influence over neuropsychiatric adverse effects is almost exclusive.

To our knowledge, our analysis shows for the first time that AZT/EFV combination differs significantly when compared to TDF/EFV combination in regards to dizziness effect over time (the presence of AZT rather than TDF in combination with EFV increases the risk for dizziness occurrence).

This result by itself does not fully explain if higher risk for dizziness in patients using AZT/EFV compared to TDF/EFV is due to an additive effect of AZT with EFV, or a synergic effect of AZT with EFV (potentiating EFV dizziness only when both are combined). However, our work demonstrated that AZT and TDF without EFV presence in regarding to dizziness risk, do not differ significantly. Thus, the differences observed between AZT/EFV and TDF/EFV combination regimens in regarding to higher risk for dizziness occurrence may be due to a AZT and EFV synergic effect, because the net effect of the combination is greater than could be the sum of the individual effects of both, potentiating EFV adverse effects, dizziness included. If were merely an additive effect, AZT/EFV and TDF/EFV regimens would not present differences in regarding dizziness occurrence, since both without the EFV presence not present differences, as shown in this work.

Conclusion

Our work demonstrated a high percentage of patients (50.6%) who reported EFV-related neuropsychiatric effects, but only 28% of them discontinued EFV-containing regimens. These results are worrying, since these effects are directly related to poor therapy adherence. Headache, insomnia and depression had higher distribution after the first four weeks of treatment, suggesting that adverse neuropsychiatric effects to EFV can last longer, not just be limited to the initial treatment periods. In addition, our results show that EFV use is associated with elevated risk for neuropsychiatric adverse effects, being women the most affected with EFV-related neuropsychiatric effects, including depression episodes. We also observed that dizziness is more frequent during

use of EFV/AZT combination regimens. Our work showed that the study of HAART adverse effects should not be limited to a single drug, but instead in the combination regimen as a whole.

References

1. Cressey TR e Lallemand M (2007) Pharmacogenetics of antiretroviral drugs for the treatment of HIV-infected patients: an update. *Infect Genetic Evol* 7:333-342
2. Tozzi V (2010) Pharmacogenetics of antiretrovirals. *Antiviral research* 85(1):190–200
3. Michaud V, et al. (2012) The dual role of pharmacogenetics in HIV treatment: mutations and polymorphisms regulating antiretroviral drug resistance and disposition. *Pharmacological reviews* 64(3):803–833
4. Carr A, Cooper DA (2000) Adverse effects of antiretroviral therapy. *Lancet*; 356:1423-30.
5. Montessori V, et al. (2004) Adverse effects of antiretroviral therapy for HIV infection. *Canadian Medical Association Journal* 170(2):229–238
6. Muñoz-Moreno, Fumaz CR, Prats A, et. al. (2010) Interruptions of antiretroviral therapy in human immunodeficiency virus infection: are they detrimental to neurocognitive functioning? *Journal of NeuroVirology* 16: 208–218.
7. Sánchez Martín A, Cabrera Figueroa S, Cruz Guerrero R, et. al. (2013) Impact of pharmacogenetics on CNS side effects related to efavirenz. *Pharmacogenomics* 14(10):1167–1178
8. Decloedt EH, Maartens G (2013) Neuronal toxicity of efavirenz: a systematic review. *Expert opinion on drug safety* 12(6):841–6
9. Gazzard BG, Anderson J, Babiker A, et. al. (2008) British HIV Association guidelines for the treatment of HIV-1-infected adults with antiretroviral therapy. *Hiv Med* 9(8): 563–608.
10. European Medicines Agency (2012) Efavirenz Teva, INN – efavirenz. EMA website http://www.ema.europa.eu/docs/pt_PT/document_library/EPAR_Product_Information/human/002352/WC500121447.pdf (Acessed 29 setembro 2014)
11. Ministério da Saúde do Brasil (2013). Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos. Ministério da

Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais IX 1:216p.

12. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents (2015) Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents. Department of Health and Human Services. AIDSinfo website <https://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf> (Accessed 12 June 2015)

13. von Giesen HJ, Köller H, Theisen A, Arendt G (2002) Therapeutic effects of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors on the central nervous system in HIV-1-infected patients. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 29:363–367

14. Kasim NA, Whitehouse M, Ramachandran C, et al. (2004) Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. *Mol Pharm.* 1(1):85-96.

15. Blanch J, Corbella B, Garcia F, et al. (2001) Manic syndrome associated with efavirenz overdose. *Clin Infect Dis* 33(2):270-271

16. Staszewski S, Morales-Ramirez J, Tashima KT, et. al. (1999) EFV plus zidovudine and lamivudine, EFV plus indinavir, and indinavir plus zidovudine and lamivudine in the treatment of HIV-1 infection in adults. *N. Engl. J. Med* 341, 1865–1873.

17. Wynn H, Brundage R, Fletcher C. (2002) Clinical implications of central nervous system penetration of antiretroviral drugs. *CNS Drugs* 6, 595–609

18. Sutterlin S, Vogele C, Gauggel S (2010) Neuropsychiatric complications of efavirenz therapy: suggestions for a new research paradigm. *J Neuropsychiatry Clin Neuroscience* 22:361–9

19. Clifford DB, Evans S, Yang Y, et al. (2009) Long-term impact of efavirenz on neuropsychological performance and symptoms in HIV-infected individuals (ACTG 5097s). *HIV Clin Trials* 10:343–55.

20. Abers MS, Shandera WX, Kass JS (2014) Neurological and psychiatric adverse effects of antiretroviral drugs. *CNS Drugs* 28:131-145

21. Ciccarelli N, Fabbiani M, Di Giambenedetto S, et. al. (2011) Efavirenz associated with cognitive disorders in otherwise asymptomatic HIV-infected patients. *Neurology* 7(6):1403–9.

22. Fairman K e Matheral B (2000) Evaluating medication adherence: which measure is right for your program? *Strategies* 2:4.

23. Lochet P, Peyrière H, Lotthé A, et. al. (2003) Long-term assessment of neuropsychiatric adverse reactions associated with efavirenz. *HIV Medicine* 4(1):62-6.

24. Fumaz CR, Muñoz-Moreno JA, Moltó J, et. al. (2005) Long-term neuropsychiatric disorders on efavirenz-based approaches: quality of life, psychologic issues, and adherence. *Journal Acquired Immune Deficiency Syndromes* 38 (5) 560-5.
25. Burger D, van der Heiden I, la Porte C, et al. Interpatient variability in the pharmacokinetics of the HIV non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor efavirenz: the effect of gender, race, and CYP2B6 polymorphism. *Br J Clin Pharmacol.* 2006;61(2):148_54.
26. Barrett JS, Joshi AS, Chai M, et. al. (2002) Population pharmacokinetic meta-analysis with efavirenz. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2002;40(11):507_19.
27. Usach I, Melis V, Peris JE (2013) Review article Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors : a review on pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and tolerability. *Journal of the International AIDS Society* (16):1–14

Josue Jeyzon de Lima Soares Valeriano

Curriculum Vitae

Dados pessoais

Nome Josue Jeyzon de Lima Soares Valeriano
Filiação JOSUE SEBASTIÃO SOARES VALERIANO e ANA ANGELICA DE LIMA RAMOS
Nascimento 22/07/1987 - Recife/PE - Brasil
Carteira de Identidade 7075060 SDS - PE - 13/06/2002
CPF 061.013.544-90

Formação acadêmica/titulação

- 2014** Mestrado em Genética.
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
Título: Farmacogenética do tratamento anti-HIV: associação de polimorfismos genéticos com as reações adversas em pacientes em HAART
Orientador: Rafael Lima Guimarães
Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
- 2013** Mestrado interrompido(a) em Ciências Farmacêuticas.
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
Título: Sínteses de Híbridos Ftalil-Tiossemicarbazonas, Fitalil-4-Tiazolidinona e Ftalil-4-Tiazóis e Avaliação da Atividade Biológica Frente ao Vírus da Febre Amarela., Ano de obtenção: 2013
Orientador: Ana Cristina Lima Leite
Ano de interrupção: 2013
- 2005 - 2009** Graduação em Biomedicina.
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil

Formação complementar

- 2015 - 2015** Treinamento em Citometria de Fluxo utilizando o equipamento FACSAria III. . (Carga horária: 80h).
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Porto Alegre, Brasil
- 2014 - 2014** Curso de curta duração em Estudos de Associação Genética em Humanos: do deli. (Carga horária: 2h).
Universidade Estadual da Paraíba, UEPB, Campina Grande, Brasil
- 2014 - 2014** Curso de curta duração em Análise genética-estatística via STATGEN. (Carga horária: 2h).
Universidade Estadual da Paraíba, UEPB, Campina Grande, Brasil
- 2014 - 2014** Curso de curta duração em Bases de dados Integrity e MetaCore da Thomson Reu. (Carga horária: 5h).
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil
- 2008 - 2008** Curso de curta duração em Correlações Clínico-laborat. em Bioquímica Clínica. (Carga horária: 20h).
Associação Caruaruense de Ensino Superior, ASCES, Caruaru, Brasil
- 2007 - 2007** Extensão universitária em Bioquímica e Fisiologia Endócrina. (Carga horária: 45h).
Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, Brasil

2006 - 2006 Curso de curta duração em Atualização em Hematologia. (Carga horária: 40h).
ETEC - Central de Cursos, ETEC, Brasil

Atuação profissional

1. Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Vínculo institucional

2014 - Atual	Vínculo: Mestrado , Enquadramento funcional: Pesquisador , Carga horária: 40, Regime: Integral
2010 - 2013	Vínculo: Mestrado , Enquadramento funcional: Pesquisador, Regime: Parcial
2009 - 2009	Vínculo: Projeto de Pesquisa , Enquadramento funcional: Pesquisador , Carga horária: 30, Regime: Parcial
2007 - 2009	Vínculo: Monitoria em Embriologia , Enquadramento funcional: Monitor , Carga horária: 20, Regime: Dedicação exclusiva

Atividades

03/2014 - Atual	Pesquisa e Desenvolvimento, Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami <i>Linhas de pesquisa:</i> <i>Farmacogenética do tratamento anti-HIV , Imunogenética no HIV</i>
01/2010 - 03/2013	Pesquisa e Desenvolvimento, LPqM - Laboratório de Planejamento em Química Medicinal <i>Linhas de pesquisa:</i> <i>Planejamento e síntese de fármacos contra o Vírus da Febre Amarela.</i>
01/2009 - 12/2009	Pesquisa e Desenvolvimento, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Antibióticos <i>Linhas de pesquisa:</i> <i>Avaliação da atividade antimicrobiana e estudo fitoquímico dos extratos do alburno de Hymenaea stigonocarpa Mart. ex Hayne</i>

2. Real Hospital Português de Beneficência em Pernambuco - RHP

Vínculo institucional

2009 - 2010	Enquadramento funcional: Biomédico , Carga horária: 30, Regime: Parcial
--------------------	---

3. Real Hospital Português de Beneficência em Pernambuco - RHP

Vínculo institucional

2009 - 2009	Vínculo: Estagiário , Enquadramento funcional: Biomédico Estagiário , Carga horária: 30, Regime: Parcial
--------------------	--

Atividades

01/2009 - 07/2009	Estágio, Real Lab <i>Estágio:</i> <i>Estágio Curricular</i>
--------------------------	---

Linhas de pesquisa

1. Avaliação da atividade antimicrobiana e estudo fitoquímico dos extratos do alburno de *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne

Objetivos: Contribuir para o estudo de plantas medicinais na busca de substâncias biologicamente ativas que possam ser utilizadas no tratamento de doenças e, conseqüentemente, favorecer em conjunto o estudo dos antimicrobianos.
2. Farmacogenética do tratamento anti-HIV

Objetivos: Identificar fatores genéticos humanos envolvidos na resposta à terapia antirretroviral
3. Imunogenética no HIV

Objetivos: Identificar fatores genéticos envolvidos no curso da infecção pelo HIV: transmissão vertical e imunidade.
4. Planejamento e síntese de fármacos contra o Vírus da Febre Amarela.

Objetivos: Planejar e sintetizar uma nova série de moléculas utilizando as ferramentas de bioisosterismo e hibridização molecular, como parte do planejamento racional de descoberta de novos protótipos a fármacos antivirais e realizar avaliações biológicas contra o vírus da Febre Amarela.

Projetos

Projetos de pesquisa **2015 - Atual** Fatores genéticos humanos envolvidos no curso da infecção pelo HIV: transmissão vertical, imunidade e resposta à terapia antirretroviral

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Mestrado acadêmico (1); Doutorado (4);

Integrantes: Josue Jeyzon de Lima Soares Valeriano; RONALDO CELERINO DA SILA; ANTONIO VICTOR CAMPOS COELHO (Responsável); RAFAEL GUIMARÃES; RONALD RODRIGUES MOURA; LUCAS ANDRÉ CAVALCANTI BRANDÃO; Anselmo Jiro Kamada; Marina Magalhães

2015 - Atual Fatores do hospedeiro e suas correlações com a falha na recuperação imunológica em pacientes HIV-positivos em tratamento antirretroviral

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (1); Mestrado acadêmico (1); Doutorado (3);

Integrantes: Josue Jeyzon de Lima Soares Valeriano; RONALDO CELERINO DA SILA; ANTONIO VICTOR CAMPOS COELHO; RAFAEL GUIMARÃES (Responsável); RONALD RODRIGUES MOURA; LUCAS ANDRÉ CAVALCANTI BRANDÃO; Anselmo Jiro Kamada; Wlisses Henrique Veloso de Carvalho da Silva; Luíz Cláudio Arraes de Alencar

Financiador(es): Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco-FACEPE

2015 - Atual A piroptose e a falha imunológica à terapia antirretroviral em pacientes HIV-positivos: um estudo genético e fenotípico

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (1); Mestrado acadêmico (1); Doutorado (2);

Integrantes: Josue Jeyzon de Lima Soares Valeriano; RONALDO CELERINO DA SILA; ANTONIO VICTOR CAMPOS COELHO; RAFAEL GUIMARÃES (Responsável); RONALD RODRIGUES MOURA; LUCAS ANDRÉ CAVALCANTI BRANDÃO; Wlisses Henrique Veloso de Carvalho da Silva

Financiador(es): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq

2014 - Atual Farmacogenética do Tratamento Anti-HIV: associação de polimorfismos genéticos com as reações adversas em pacientes em HAART

Descrição: Avaliar se há associação de polimorfismos genéticos em genes envolvidos nas vias da farmacocinética de um determinado antirretroviral com o desenvolvimento de reações adversas a este medicamento em pacientes sob regime de Terapia Antirretroviral Altamente Ativa - HAART. Avaliar se há associação genética à ocorrência de um determinado efeito adverso.

Situação: Em andamento Natureza: Projetos de pesquisa

Alunos envolvidos: Graduação (2); Mestrado acadêmico (1); Doutorado (3);

Integrantes: Josue Jeyzon de Lima Soares Valeriano; ANTONIO VICTOR CAMPOS COELHO; RAFAEL GUIMARÃES (Responsável); RONALD RODRIGUES MOURA

Áreas de atuação

1. Genética Humana e Médica
2. Biologia Molecular
3. Imunologia
4. Virologia
5. Farmacologia

Idiomas

Inglês	Compreende Bem , Fala Razoavelmente , Escreve Bem , Lê Bem
Espanhol	Compreende Bem , Fala Razoavelmente , Escreve Razoavelmente , Lê Bem
Português	Compreende Bem , Fala Bem , Escreve Bem , Lê Bem

Produção

Produção bibliográfica

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo)

1. **VALERIANO, J. J. L. S.**, SILVA, W. H. V. C., MOURA, R. R., COELHO, A. V. C., GUIMARAES, R. L. FREQUENCY OF THE NEUROPSYCHIATRIC ADVERSE EFFECTS IN HIV INFECTED PATIENTS SUBMITTED TO EFAVIRENZ-CONTAINING THERAPY IN A POPULATION OF PERNAMBUCO, BRAZILIAN NORTHEAST In: VI SINATER 2015 - VI INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON DIAGNOSIS AND THERAPY, 2015, Recife.

SINATER 2015. , 2015. v.1. p.1 - 4

2. **VALERIANO, J. J. L. S.**, MOURA, R. R., COELHO, A. V. C., GUIMARAES, R. L. IMPACTO DA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL ALTAMENTE ATIVA (HAART) NOS EFEITOS NEUROPSIQUIÁTRICOS RELATADOS EM PACIENTES HIV POSITIVOS SUBMETIDOS À TERAPIA CONTENDO EFAVIRENZ In: V JORNADA DA PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA DA UFPE, 2015, Recife.

V JORNADA PPGG. , 2015. v.1. p.1 - 3

3. CELERINO DA SILVA, R., **VALERIANO, J. J. L. S.**, COELHO, A. V. C., CROVELLA, S., GUIMARAES, R. SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN IFNG AND PROX-1 GENES ARE NOT ASSOCIATED WITH

HIV-1 INFECTION IN A POPULATION OF THE STATE OF PERNAMBUCO In: XX ENCONTRO DE GENÉTICA DO NORDESTE - ENGENE, 2014, CAMPINA GRANDE - PB.
GENÉTICA HUMANA E MÉDICA. , 2014. v.1. p.1 - 60

Trabalhos publicados em anais de eventos (resumo expandido)

1. **VALERIANO, J. J. L. S.**, SANTIAGO, R., VASCONCELOS, E. T., FREITAS, H. P.
CONFECÇÃO DE PREPARAÇÕES HISTOLÓGICAS DE OVÁRIO DE GATA PARA UTILIZAÇÃO EM AULAS PRÁTICAS DE GAMETOGENESE FEMININA HUMANA In: CONGRESSO DE BIOMEDICINA E FARMÁCIA, 2008, Caruaru - PE.
CONGRESSO DE BIOMEDICINA E FARMÁCIA. , 2008.
2. FREITAS, H. P., SANTIAGO, R., **VALERIANO, J. J. L. S.**, VASCONCELOS, E. T.
CONFECÇÃO DE PREPARAÇÕES HISTOLÓGICAS DE TESTÍCULO DE RATO PARA UTILIZAÇÃO EM AULAS PRÁTICAS DE GAMETOGENESE MASCULINA HUMANA In: CONGRESSO DE BIOMEDICINA E FARMÁCIA, 2008, Caruaru - PE.
CONGRESSO DE BIOMEDICINA E FARMÁCIA. , 2008.

Eventos

Eventos

Participação em eventos

1. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XX Encontro de Genética do Nordeste - ENGENE**, 2014. (Encontro)
SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN IFNG AND PROX-1 GENES ARE NOT ASSOCIATED WITH HIV-1 INFECTION IN A POPULATION OF THE STATE OF PERNAMBUCO.
2. **V Simpósio Internacional em Diagnóstico E Terapêutica - SINATER**, 2014. (Simpósio)
.
3. Apresentação de Poster / Painel no(a) **Congresso de Biomedicina e Farmácia**, 2008. (Congresso)
CONFECÇÃO DE PREPARAÇÕES HISTOLÓGICAS DE OVÁRIO DE GATA PARA UTILIZAÇÃO EM AULAS PRÁTICAS DE GAMETOGENESE FEMININA HUMANA.
4. **XV Semana da Biomedicina**, 2008. (Congresso)
.
5. **XIV Semana da Bimomedicina**, 2007. (Congresso)
.
6. **XIII Semana de Biomedicina**, 2006. (Congresso)
.

Organização de evento

1. SANTOS, N., BEZERRA, M. A. C., SILVA, J. A., **VALERIANO, J. J. L. S.**, LISBOA, L., MEDEIROS, R., DOMINGOS, I., LUZ, C., PIERECK, B., CIRINO, I., BATISTA, J. V. G. F.
V JORNADA DA PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA DA UFPE, 2015. (Congresso, Organização de evento)