

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA

LARISSA BEATRIZ LISBOA CARVALHO

**POLIMORFISMOS EM GENES ENVOLVIDOS NAS VIAS DE ABSORÇÃO,
DISTRIBUIÇÃO, METABOLIZAÇÃO E EXCREÇÃO (ADME) DE FÁRMACOS E
SUA RELAÇÃO COM A FALHA VIROLÓGICA DA TERAPIA ANTI-HIV**

Recife
2018

LARISSA BEATRIZ LISBOA CARVALHO

**POLIMORFISMOS EM GENES ENVOLVIDOS NAS VIAS DE ABSORÇÃO,
DISTRIBUIÇÃO, METABOLIZAÇÃO E EXCREÇÃO (ADME) DE FÁRMACOS E
SUA RELAÇÃO COM A FALHA VIROLÓGICA DA TERAPIA ANTI-HIV**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética, Área de concentração Genética, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Genética.

Orientador: Rafael Lima Guimarães

Recife

2018

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

Carvalho, Larissa Beatriz Lisboa

Polimorfismos em genes envolvidos nas vias de absorção, distribuição, metabolização, excreção, (ADME) de fármacos e sua relação com a falha virológica da terapia anti-HIV / Larissa Beatriz Lisboa Carvalho. – 2018.

80 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Lima Guimarães.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Genética, Recife, 2018. Inclui referências.

1. Farmacologia. 2. Farmacogenética. 3. HIV (Vírus). I. Guimaraes, Rafael Lima (orientador) .II. Título.

615.1

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2018 – 214

LARISSA BEATRIZ LISBOA CARVALHO

**POLIMORFISMOS EM GENES ENVOLVIDOS NAS VIAS DE ABSORÇÃO,
DISTRIBUIÇÃO, METABOLIZAÇÃO E EXCREÇÃO (ADME) DE FÁRMACOS E
SUA RELAÇÃO COM A FALHA VIROLÓGICA DA TERAPIA ANTI-HIV**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética, Área de concentração Genética, da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Genética.

Aprovado em: 30/01/2018

BANCA EXAMINADORA

Dr. Rafael Lima Guimarães (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Marcos André Cavalcanti Bezerra (Examinador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Neide Santos (Examinador Interno)
Universidade de Pernambuco

Dr. Paulo Roberto Eleutério de Souza (Examinador Externo)
Universidade Federal Rural de Pernambuco

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Rafael Guimarães, por acreditar na minha capacidade de desenvolver o projeto, pela paciência e compreensão ao longo dessa jornada. Agradeço ao meu grupo de pesquisa que me deu o suporte necessário, especialmente, Antônio Coelho e Wlisses Veloso, sem os quais não teria concluído o trabalho, obrigada de coração. Agradeço imensamente aos meus pais, Zezinha e Mário, ao meu querido irmão Mário e ao meu amado Tiago, que aguentaram todas as minhas lamúrias e estresse, me apoiando e me dando força sempre que precisei. Às minhas queridas amigas Carol, Gabriela, Maíra e a minha grande inspiração, Camila, muito obrigada pelo amor e apoio. Agradeço também à minha amiga-irmã-psicóloga, Arícia, por tudo. Por fim, agradeço à FACEPE por acreditar na relevância do estudo e financiar a realização do mesmo.

RESUMO

A síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), causada pela infecção do vírus da imunodeficiência humana (HIV), afeta milhões de pessoas no mundo. As mortes relacionadas à doença vêm reduzindo, principalmente devido à terapia antirretroviral altamente ativa (HAART). Há variação na resposta aos antirretrovirais e muitos pacientes não alcançam o sucesso virológico, definido como carga viral indetectável após seis meses de terapia. Polimorfismos em genes codificantes de proteínas presentes em vias farmacocinéticas de antirretrovirais podem afetar a resposta terapêutica. O presente estudo visa identificar polimorfismos genéticos associados à falha virológica da HAART. Foram recrutados 137 pacientes em tratamento em Recife-PE para um estudo de caso-controle (38 falhas e 99 sucessos). Foram analisadas variáveis clínicas e epidemiológicas, como sexo, idade, terapia, carga viral e contagem de células T-CD4+ pré-tratamento, porém nenhuma esteve associada à falha. Nove polimorfismos em sete genes (*ABCB1*, *ABCG2*, *ABCC1*, *CYP1A2*, *CYP2A4*, *CYP2A6*, *CYP2B6*) foram genotipados. Análises estatísticas indicaram associação entre os polimorfismos rs1128503 e rs2235048 do gene *ABCB1* e a falha (OR=0,4; $p=0,005$ e OR=0,5; $p=0,03$). Análises por regressão logística mostraram que o polimorfismo rs1128503 (*ABCB1*), sexo masculino e carga viral pré-tratamento estiveram associados à falha virológica (OR=0,03, $p=0,009$; OR=.25,6, $p=0,005$ e OR=8337, $p=0,003$, respectivamente). Os resultados podem contribuir para uma terapia mais personalizada, auxiliando na identificação de pacientes com risco de falha, além de acrescentar informações sobre como a variabilidade genética pode afetar a resposta à HAART.

Palavras-chave: Falha virológica. HAART. Farmacogenética.

ABSTRACT

Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), caused by human immunodeficiency virus (HIV) infection affects millions of people worldwide. Disease-related deaths have been decreasing due to highly active antiretroviral therapy (HAART). There is variation in antiretroviral response and many patients do not achieve therapeutic success, defined as undetectable viral load after six months of therapy. Polymorphisms in protein coding genes present on the antiretroviral pharmacokinetic pathways may affect the therapeutic outcome. The study aims to identify genetic polymorphisms associated with the virological failure of HAART. A total of 137 patients undergoing treatment in Recife-PE were recruited for a case-control study (38 failures and 99 successes). Clinical and epidemiological variables such as sex, age, therapy, viral load and pre-treatment T-CD4 + cell count were analyzed, but none were associated with failure. Nine polymorphisms in seven genes (*ABCB1*, *ABCG2*, *ABCC1*, *CYP1A2*, *CYP2A4*, *CYP2A6*, *CYP2B6*) were genotyped. Statistical analyzes indicated association between the polymorphisms rs1128503 and rs2235048 (*ABCB1*) and failure (OR = 0.4, p = 0.005 and OR = 0.5, p = 0.03). Logistic regression analysis showed that polymorphism rs1128503 (*ABCB1*), male sex and pre-treatment viral load were associated with virological failure (OR = 0.03, p = 0.009, OR = 25.6, p = 0.005 and OR = 8.337, p = 0.003, respectively). The results may contribute to a more personalized therapy, helping to identify patients at risk of failure, and to add information about how genetic variability can affect the response to HAART.

Key words: Virological failure. HAART. Pharmacokinetics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	-	Números estimados de adultos e crianças vivendo com HIV/AIDS em 2015 no mundo.....	17
Figura 2	-	Taxa de detecção de AIDS (/100.000 mil habitantes) segundo região de residência por ano de diagnóstico no Brasil entre 2006 e 2015.....	18
Figura 3	-	Ilustração esquemática do genoma do HIV-1.....	18
Figura 4	-	Ciclo de Replicação do HIV.....	21
Figura 5	-	Curso da Infecção por HIV.....	23
Quadro 1	-	Tratamento antirretroviral para adultos vivendo com HIV/AIDS.....	27
Quadro 2	-	Principais orientações para a estruturação de esquemas de resgate.....	28
Figura 6	-	Manejo da falha virológica.....	29
Quadro 3	-	Fatores associados à falha terapêutica.....	31
Figura 7	-	Efeito de polimorfismos genéticos sobre a farmacocinética dos fármacos.....	33
Figura 8	-	Bead VeraCode.....	47
Figura 9	-	Processo de inscrição da bead VeraCode.....	47
Figura 10	-	Ensaio de genotipagem com a tecnologia VeraCode.....	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Resumo dos genes do HIV-1, seus produtos e suas respectivas funções dentro do ciclo de replicação, infecção e patogênese.....	19
Tabela 2	- Lista dos antirretrovirais atualmente disponíveis nos EUA aprovados pelo FDA.....	26
Tabela 3	- Antirretrovirais por classe e vias metabólicas.....	35
Tabela 4	- Tabela resumindo os sete genes utilizados no estudo e seus respectivos polimorfismos (SNPs), bem como a localização desses SNPs dentro do genoma e seu significado biológico.....	44
Tabela 5	- Solução A: composição do tampão de hemólise utilizado para lisar as células sanguíneas.....	45
Tabela 6	- Solução B: composição do tampão de desnaturação de proteínas.....	46
Tabela 7	- Testes de associação (Exato de Fisher e Wilcoxon) de características demográficas, epidemiológicas e clínicas com a falha virológica.....	52
Tabela 8	- Frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos, testes de associação (Exato de Fisher) com a ocorrência de falha virológica.....	54
Tabela 9	- Coeficientes estimados, razão de chances (<i>odds ratio</i>) relacionadas, intervalos de 95% de confiança e p-valores do modelo com a melhor aderência para explicar a ocorrência de falha virológica da terapia antirretroviral (n = 137).....	56
Tabela 10	- Estratificações por esquema terapêutico recebido.....	71
Tabela 11	- Frequências alélicas observadas, valor do teste Power e equilíbrio de Hardy-Weinberg.....	72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3TC	Lamivudina
ABC	ATP-binding cassette, cassete ligante de ATP
ABCB1	Polipectídeo membro 1 da família B da superfamília ABC
ABCC1	Polipectídeo membro 1 da família C da superfamília ABC
ABCG2	Polipectídeo membro 2 da família G da superfamília ABC
ADME	Absorção, distribuição, metabolização e excreção
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
ATP	Trifosfato de adenosina
ATV	Atazanavir
AZT	Azidotimidina ou zidovudina
ARV	Antirretroviral
ART	Antiretroviral Therapy
ASO	Allele-specific oligonucleotide
CDC	Center for Disease Control
CD4	Receptor de membrana CD4
CLT	Linfócitos T Citotóxicos
CCR5	Receptor de quimiocina tipo 5
CYP	Citocromos P450
CYP1A2	Polipectídeo membro 2 da subfamília A da família 1 da superfamília CYP
CYP2A4	Polipectídeo membro 4 da subfamília A da família 2 da superfamília CYP
CYP2A6	Polipectídeo membro 6 da subfamília A da família 2 da superfamília CYP
CYP2B6	Polipectídeo membro 6 da subfamília B da família 2 da superfamília CYP
DNA	Ácido desoxirribonucleico

dsDNA	Double-strand DNA
EFZ	Efavirenz
EHW	Equilíbrio de Hardy-Weinberg
EUA	Estados Unidos da América
FDA	<i>U.S. Food and drug administration</i> , órgão americano responsável pelo controle de alimentos e fármacos
HAART	Highly active antiretroviral therapy, terapia antirretroviral de alta atividade
HIV-1	Vírus da imunodeficiência humana tipo 1
HIV-2	Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 2
IC	Intervalo de confiança
IN	Integrase do HIV-1
INNTR	Inibidor não-análogo a nucleosídeos da transcriptase reversa
INTR	Inibidor análogo a nucleosídeos da transcriptase reversa
IOs	Infecções Oportunistas
IP	Inibidor de protease do HIV-1
LPV/r	Combinação de lopinavir com ritonavir
LSO	Locus-specific oligonucleotides
LTR	<i>Long terminal repeats</i> , repetições terminais longas
MAF	Minimun Allele Frequency
Mg	Miligrama(s)
MDR	Multiple Drug Resistance
mL	Mililitro(s)
MMWR	Morbidity and Mortality Weekly Report
MRP1	Polipeptídeo de múltipla resistência a drogas tipo 1
MPR	Medication Possession Ratio

NVP	Nevirapina
OR	<i>Odds ratio</i>
ORF	Open Read Frame
P	Protease do HIV-1
PCP	Pneumonia por <i>Pneumocystis carinii</i>
PCR	Reação em cadeia da DNA polimerase
PR	Protease do HIV-1
P-gp	Glicoproteína de permeabilidade (sinônimo de ABCB1)
PVHA	Pessoas Vivendo com HIV/AIDS
RNA	Ácido ribonucléico
RTV	Ritonavir
ssRNA	Single strand DNA
SK	Sarcoma de Kaposi
SNC	Sistema Nervoso Central
SNP	<i>Single nucleotide polymorphism</i> , polimorfismo de único nucleotídeo
SUS	Sistema Único de Saúde
TM	Proteínas transmembranares
TDF	Tenofovir
TR	Transcriptase reversa
UNAIDS	Programa conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS
UGT	UDP- glicuronosiltransferase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	15
2.1	HIV E AIDS.....	15
2.1.1	Histórico.....	15
2.1.2	Epidemiologia.....	16
2.1.3	Estrutura Genética do HIV-1.....	18
2.1.4	Infecção, Ciclo de Vida e Patogênese.....	20
2.2	TERAPIA ANTI-HIV.....	23
2.3	FALHA VIROLÓGICA.....	28
2.4	FARMACOGENÉTICA.....	32
2.4.1	Histórico, Conceito e Importância.....	32
2.4.2	Farmacologia dos Antirretrovirais.....	34
2.4.3	Superfamília ABC.....	36
2.4.4	Superfamília CYP.....	38
2.5	OBJETIVOS.....	40
2.5.1	Objetivo Geral.....	40
2.5.2	Objetivos Específicos.....	41
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3.1	DESENHO DO ESTUDO.....	42
3.2	POPULAÇÃO DO ESTUDO.....	43
3.3	ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA.....	43
3.4	VARIÁVEIS ESTUDADAS.....	43
3.4.1	Variáveis Clínicas e epidemiológicas.....	43
3.4.2	Polimorfismos Genéticos.....	43
3.5	EXTRAÇÃO DE DNA.....	44
3.6	GENOTIPAGEM.....	46
3.7	ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	50
4	RESULTADOS.....	51
4.1	ANÁLISES DAS VARIÁVEIS CLÍNICAS E EPIDEMIOLÓGICAS.....	51
4.2	ANÁLISE DAS VARIÁVEIS GENÉTICAS.....	52

4.3	REGRESSÃO LOGÍSTICA.....	55
5	DISCUSSÃO.....	57
6	CONCLUSÕES.....	62
	REFERÊNCIAS.....	63
	APÊNDICE A- ESQUEMAS TERAPÊUTICOS UTILIZADOS PELA POPULAÇÃO DO ESTUDO.....	71
	APÊNDICE B – FREQUÊNCIAS ALÉLICAS OBSERVADAS, VALOR DO TESTE POWER E EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG.....	72
	ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO.....	73
	ANEXO B – QUESTIONÁRIO CLÍNICO.....	75
	ANEXO C – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA.....	80

1 INTRODUÇÃO

Atualmente há cerca de 37 milhões de pessoas vivendo com HIV/AIDS (PVHA) no mundo, e aproximadamente metade delas tem acesso à terapia antirretroviral. Em 2015, a UNAIDS lançou ambiciosas metas de tratamento para ajudar a acabar com a epidemia. Uma delas é que até 2020, 90% das PVHA em tratamento estejam com carga viral indetectável. A importância de se atingir a supressão da replicação viral se deve ao fato de que ela influencia diretamente nos benefícios clínicos sustentáveis da terapia e no risco de progressão da doença.

Tendo em vista que o principal objetivo da terapia anti-HIV é a supressão da replicação do vírus, um parâmetro importante para a definição de falha terapêutica é a falha virológica, a qual é caracterizada, segundo o Ministério da Saúde, por carga viral plasmática detectável após seis meses do início ou modificação do tratamento antirretroviral, ou por detecção da carga viral nos indivíduos que a mantinham indetectável na vigência do tratamento.

A resposta à determinada terapia medicamentosa varia individualmente, isso significa que um mesmo esquema terapêutico anti-HIV pode suprimir a carga viral em alguns indivíduos e não ter efeito sobre outros. Essa variação da resposta à terapia é multifatorial, podendo ser influenciada por fatores como idade, sexo, estado de saúde, co-infecções, interações medicamentosas, perfil genético, dentre outros.

A farmacogenética é a área de estudo responsável pela investigação sobre como diferenças genéticas entre indivíduos podem afetar as respostas às drogas. Neste sentido, polimorfismos em genes codificadores de enzimas metabolizadoras, transportadores ou receptores de antirretrovirais podem influenciar no desfecho terapêutico.

O presente estudo teve como objetivo avaliar como o perfil genético individual influenciaria na resposta à droga estaria associada a uma maior ou menor chance de haver falha virológica de esquemas anti-HIV. Dessa forma, o estudo pretende contribuir para o entendimento de como a variabilidade genética influencia na resposta às drogas utilizadas na HAART, para que num futuro próximo, a terapia se torne personalizada, considerando as diferenças individuais para ajuste de dosagens e escolha dos antirretrovirais adequados ao paciente.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 HIV E AIDS

2.1.1 Histórico

Em meados de 1981, o Center for Disease Control (CDC) relatou a ocorrência de cinco casos de pneumonia por *Pneumocystis carinii* (PCP) em homens previamente saudáveis, homossexuais e residentes em Los Angeles (EUA). Como a PCP nos EUA era limitada, quase exclusivamente, a pessoas gravemente imunodeprimidas, a ocorrência desses cinco casos em indivíduos sem nenhum registro de imunodeficiência prévia, era incomum e deixou os clínicos intrigados. Além disso, o fato de serem homossexuais sugeriu uma associação entre algum aspecto do estilo de vida homossexual ou doença adquirida por contato sexual e a PCP nesta população. Tais observações sugeriam a possibilidade de uma disfunção imune-celular adquirida, a partir do contato sexual, que predisporia indivíduos a infecções oportunistas (Center for Disease Control, 1981a).

Esses primeiros casos de disfunção imune-celular adquirida precederam diversos outros, sendo relatada ocorrência não só de PCP, mas também Sarcoma de Kaposi (SK) e infecções graves entre homens homossexuais, haitianos que residiam nos EUA e portadores de hemofilia A (Center for Disease Control, 1981b; 1982a,b,c). Dessa forma, em um pouco mais de um ano já havia notificação de 593 casos de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS, do inglês Acquired Immunodeficiency Syndrome), a qual foi fatal em 43% dos casos.

Apesar da etiologia dos casos de AIDS ainda ser desconhecida em 1982, as observações clínicas indicavam que um agente transmissível estava envolvido e a transmissão se dava por contato íntimo direto envolvendo superfícies mucosas ou através de disseminação parenteral, como ocorre entre os dependentes químicos intravenosos e, possivelmente, os pacientes com hemofilia que realizavam transfusões sanguíneas (CDC, 1982e).

A força tarefa da AIDS liderada pelo CDC, conseguiu identificar os principais fatores de risco para a AIDS e separou os casos em grupos com base nesses fatores: homens homossexuais (75% dos casos), usuários de drogas intravenosas, haitianos e pessoas com hemofilia A, formando o conhecido 4H. A partir de 1982 as

notificações sobre novos casos de AIDS, se tornaram mais frequentes, marcando o início da epidemia pelo HIV-1. (Center for Disease Control, 1982d,e; 1983a,b). Estas publicações marcaram o que se tornou uma das piores pandemias da história, com mais de 60 milhões de indivíduos infectados e 30 milhões de mortes relacionadas ao HIV/AIDS (De Cock et al., 2011).

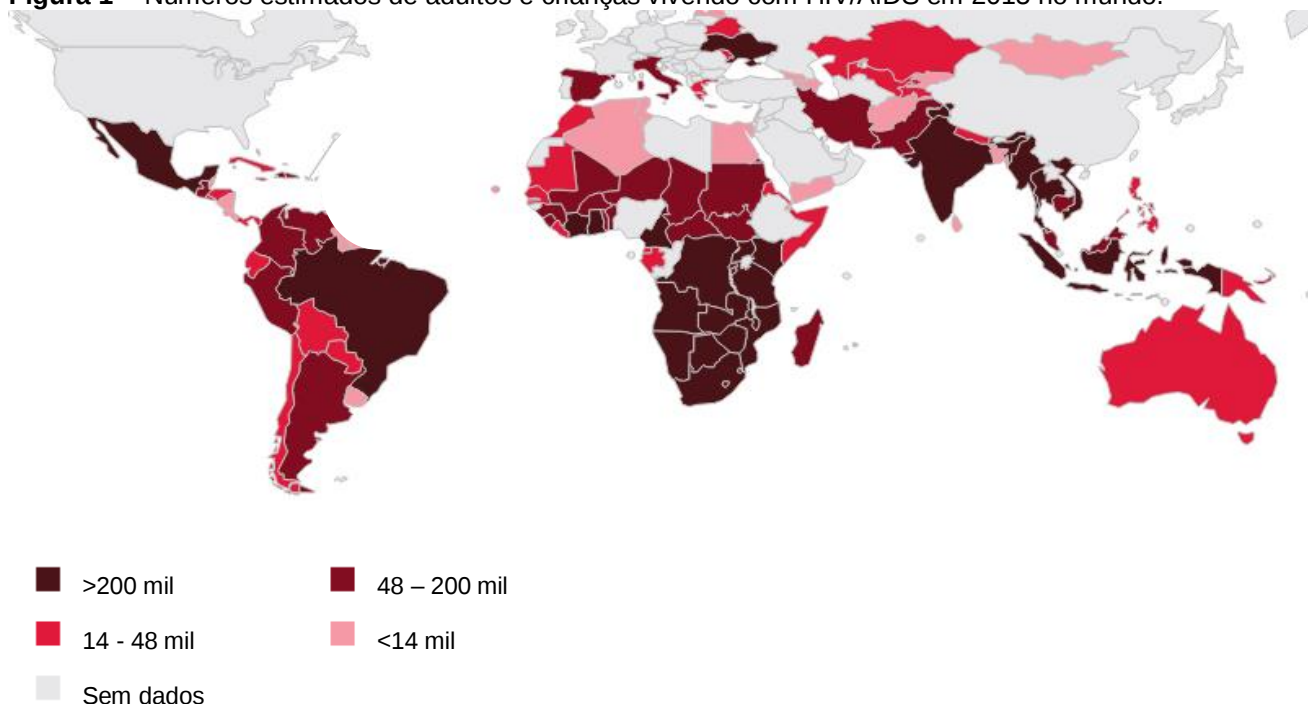
Um ensaio retrospectivo de amostras de soro a partir de pacientes com hepatite armazenados em Los Angeles documentou infecção pelo vírus da imunodeficiência humana já em 1979 (De Cock et al., 2011), porém o HIV-1 só foi isolado em 1983. Dois grupos de pesquisa nos EUA e França isolaram independentemente o HIV-1, o qual recebeu os nomes de LAV (*Lymphadenopathy Associated Virus* ou Vírus Associado à Linfadenopatia) e HTLV-III (*Human T-Lymphotropic Virus* ou Vírus T-Linfotrópico Humano tipo III) respectivamente nos dois países (Montaigner et al., 1983; Gallo et al., 1983). Um segundo agente etiológico foi identificado em 1986, um retrovírus com características semelhantes ao HIV-1, denominado HIV-2.

Apesar da origem do HIV-1 e 2 ser ainda desconhecida, sabe-se que uma grande família de retrovírus relacionados a eles está presente em primatas não-humanos, na África sub-Sahariana e que todos os membros desta família de retrovírus possuem estrutura genômica semelhante e capacidade de infectar linfócitos através do receptor CD4. O vírus da imunodeficiência símia (SIV), que infecta uma subespécie de chimpanzés africanos, é 98% similar ao HIV-1, sugerindo que ambos evoluíram de uma origem comum. Por esses fatos, supõe-se que o HIV tenha origem africana.

2.1.2 Epidemiologia

No decorrer dos últimos 30 anos a epidemia de AIDS trouxe consequências devastadoras para famílias, comunidades e países, sendo um dos maiores desafios para a saúde pública (Martins et al., 2014). Ao final de 2015 havia cerca de 36,7 milhões de PVHA ao redor do mundo (figura 1) destas, estima-se que 2,1 milhões [1,8 milhão-2,4 milhões] foram infectadas neste mesmo ano (UNAIDS, 2016b) representando uma média de 5.700 de novas infecções por dia (UNAIDS, 2016a).

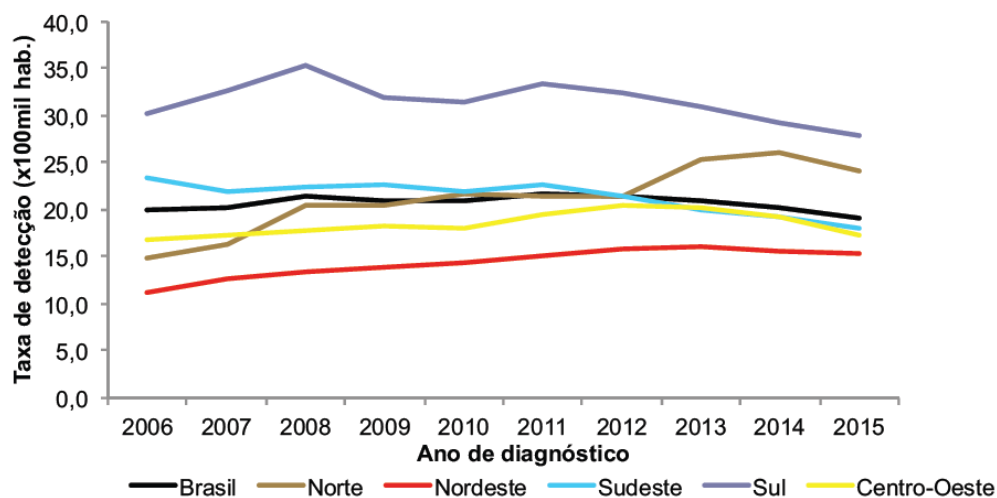
Figura 1 - Números estimados de adultos e crianças vivendo com HIV/AIDS em 2015 no mundo.



Fonte: Adaptada de <http://aidsinfo.unaids.org/>.

Das estimadas 2 milhões de PVHA na América Latina em 2015, quase metade (827 mil) residia no Brasil. O país tem registrado uma media anual de 41,1 mil casos de AIDS nos ultimos cinco anos (2011 a 2015), destes, a região Nordeste foi responsável por 8,6 mil em 2015. A taxa de detecção de aids no Brasil tem apresentado estabilização nos últimos dez anos, com uma média de 20,7 casos/100 mil habitantes (Ministério da Saúde, 2016b). A região Nordeste vem apresentando uma tendência linear de crescimento (figura 2), com taxa de detecção de 15,3 em 2015, representando um aumento de quase 40% em relação a taxa registrada em 2006 (11,2 casos/100.000 habitantes) (Ministério da Saúde, 2016a). O estado de Pernambuco apresentou uma taxa de prevalência um pouco maior do que a média da região, registrando 19 casos/100.000 habitantes. A taxa de detecção variou de 26,7 entre os homens e 13,5 entre as mulheres. Em Recife, capital do estado, houve o registro de 33,1 casos/100 mil habitantes em 2015, praticamente 50% maior que a média nacional, com prevalência de 50 casos/100 mil habitantes entre homens e 21 entre as mulheres (Ministério da Saúde, 2016b).

Figura 2 - Taxa de detecção de aids (/100.000 mil habitantes) segundo região de residência por ano de diagnóstico no Brasil entre 2006 e 2015.

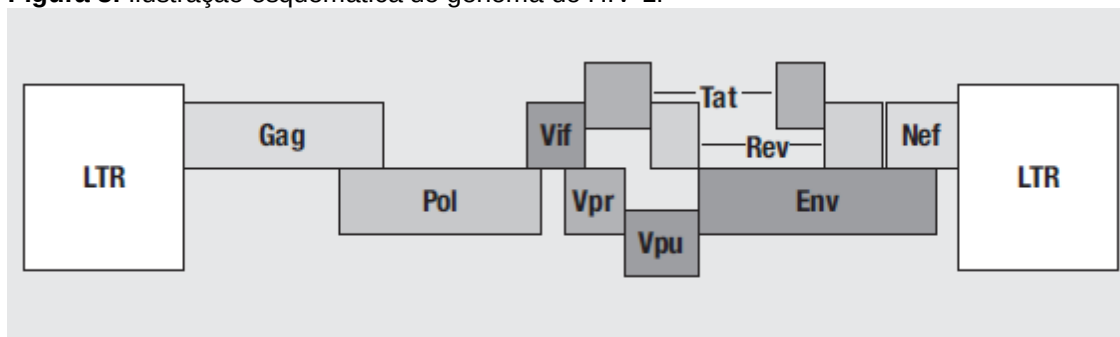


Fonte: Ministério da Saúde (2016b).

2.1.3 Estrutura Genética do HIV-1

O HIV é membro do gênero *Lentivirus* e da família *retroviridae*, sendo seu genoma composto por duas moléculas idênticas de RNA de fita simples e caracterizado pela presença de três genes funcionais (*gag*, *env*, *pol*) (Fanales-Belasio *et al.*, 2010) e seis genes acessórios (*vif*, *vpr*, *tat*, *rev*, *nef* e *vpu*) envolvidos na infecção e patogênese. O genoma do HIV, esquematizado na Figura 3, contém 9181 nucleotídeos, distribuídos em nove ORFs (do inglês: Open Reading Frame) os quais codificam para 15 proteínas (Watts *et al.*, 2009).

Figura 3: Ilustração esquemática do genoma do HIV-1.



Fonte: Fanales-Belasio *et al.*, (2010).

O gene *gag* codifica para proteínas estruturais do capsídeo (p24, p7, p6) e da matriz (p17), o gene *env* codifica para glicoproteínas do envelope viral gp120 e

gp41, as quais reconhecem receptores da superfície celular. O gene *pol* codifica para enzimas cruciais para a replicação, maturação das partículas virais e sua capacidade infecciosa, que são a transcriptase reversa (TR), integrase (IN) e protease (PR) (Fanales-Belasio et al., 2010). Os genes funcionais e acessórios, bem como seus produtos e suas principais funções estão resumidos na tabela 1.

Tabela1 - Resumo dos genes do HIV-1, seus produtos e suas respectivas funções dentro do ciclo de replicação, infecção e patogênese.

Genes Funcionais	Produtos	Funções
<i>gag</i>	p24, p7, p6	Proteínas do capsídeo
	p17	Proteína da matriz
<i>env</i>	gp120, gp41	Glicoproteínas do envelope viral, reconhecem receptores de superfície celular do hospedeiro
<i>pol</i>	RT	Converte o RNA viral em DNA
	IN	Incorpora o DNA viral ao DNA cromossômico do hospedeiro
	PR	Cliva os precursores das proteínas <i>gag-pol</i> em seus componentes
Genes Acessórios	Produtos	Funções
<i>Vif</i>	Vif	Aumenta a infecciosidade das partículas virais
<i>vpr</i>	Vpr	Aumenta eficiência da transcrição reversa
<i>Tat</i>	TAT	Promove a expressão dos genes do HIV
<i>rev</i>	Rev	Exportação do núcleo para o citoplasma do RNAm viral corretamente processado
<i>nef</i>	Nef	Aumenta infecciosidade e patogênese; auxilia no brotamento das partículas virais
<i>vpu</i>	Vpu	Auxilia a liberação do vírus

RT – Transcriptase Reversa;

IN – Integrase;

PR – Protease;

Vif – Fator de infecciosidade viral;

Vpr – Proteína viral “R”;

Tat –Ativador transcricional;

Rev – Regulador da expressão viral;

Nef – Fator de regulação negativa;

Vpu – Proteína viral “U”;

Fontes: Fanales-Belasio et al., 2010 e Kirchhoff et al., 1999.

2.1.4 Infecção, Ciclo de Vida e Patogênese

A infecção pelo HIV-1 se dá principalmente através do contato sexual desprotegido, amamentação e uso de seringas contaminadas, pois as células infectadas liberam partículas virais maduras no plasma sanguíneo e em certas secreções corporais (tais como sêmen, fluido vaginal e leite materno) que são então transmitidas para outro indivíduo (Kilmarx, 2009).

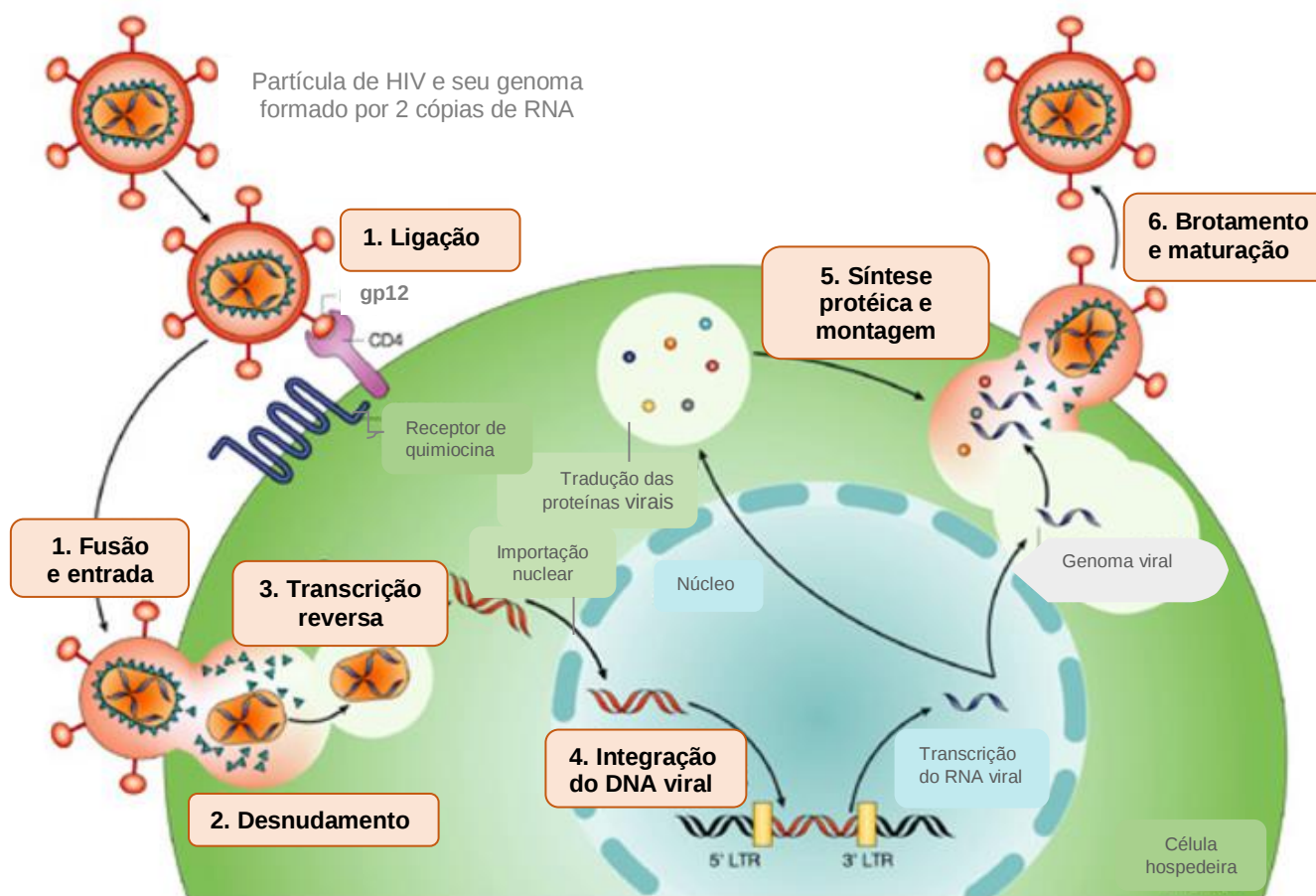
O HIV-1 utiliza o CD4 e receptores de quimiocinas CCR5 e CXCR4 como meio de infecção. Tais receptores têm funções naturais na superfície celular e são sequestrados pelo vírus para servir como porta de entrada na célula hospedeira (Weiss, 2002). Dessa forma, o HIV pode se ligar à cerca de 60% dos linfócitos T circulantes, em precursores de células T dentro da medula óssea e do timo, em monócitos/macrófagos, eosinófilos, células dendríticas e células microgliais do SNC (Fanales-Belasio *et al.*, 2010).

O ciclo de replicação do HIV (Figura 4) pode ser resumido em 6 passos: 1) ligação e entrada na célula; 2) perda do capsídeo ou desnudamento; 3) transcrição reversa; 4) integração proviral; 5) síntese de proteínas virais e montagem; 6) brotamento (Fanales-Belasio *et al.*, 2010).

Na primeira etapa do ciclo, ocorre uma dupla ligação da gp120 (proteína do capsídeo viral) ao CD4 e um receptor de quimiocina, presentes na membrana da célula hospedeira. Essa ligação permite a fusão das membranas e entrada do vírus na célula-alvo (Fanales-Belasio *et al.*, 2010).

Após a fusão, o núcleo viral não revestido (desnudamento) entra no citoplasma da célula-alvo liberando o RNA viral. A conversão do RNA viral em DNA proviral ocorre devido à ação da TR e da integrase; esta última proteína também é responsável pela transferência do DNA proviral para o núcleo da célula e sua integração ao genoma do hospedeiro (Fanales-Belasio *et al.*, 2010). A ativação metabólica da célula inicia o processo de síntese do material viral, dessa forma, RNA genômico e proteínas virais são produzidas e montadas em novas partículas virais. Tais partículas migram para a superfície celular e brotam da célula. Durante o processo de brotamento, as membranas lipídicas do vírus podem incorporar várias proteínas da célula hospedeira.

Figura 4 - Ciclo de replicação do HIV.



Fonte: Adaptado de Rambaut *et al.*, 2004.

Nos momentos iniciais da infecção, as células infectadas pelo HIV podem transferir o vírus para células do sistema imune local (por exemplo, células T, macrófagos, células dendríticas), bem como células do epitélio da mucosa vaginal ou anorretal. Dessa forma, as células dendríticas e os linfócitos T CD4+ podem ser infectados através de mecanismos dependentes de receptores e permitir propagação do vírus para os gânglios linfáticos regionais e subsequentemente para a corrente sanguínea. Interrupções na barreira da mucosa permitem que o HIV-1 cruze mais facilmente o epitélio e a inflamação local resultam em altos níveis de ativação das células T, aumentando a integração viral e replicação. Respostas inflamatórias locais induzidas pelo vírus facilitam a replicação viral e o desenvolvimento de uma fase aguda de viremia, que conduz à disseminação da infecção para outros tecidos e órgãos linfoides. Os sinais clínicos da síndrome retroviral aguda nem sempre são percebidos, mas febre, mal-estar, erupção cutânea

e encefalite durando até duas semanas podem ocorrer (Fanales-Belasio *et al.*, 2010).

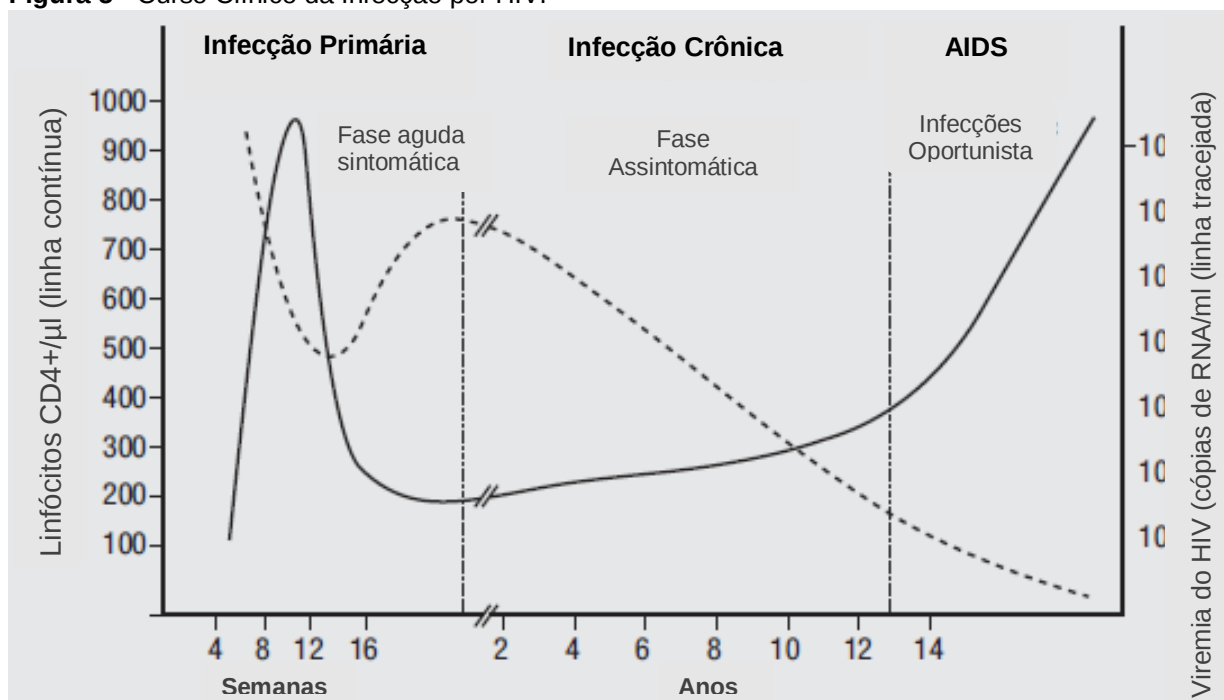
Durante a fase aguda de viremia, a replicação viral em curso atinge níveis elevados, frequentemente maiores do que 10^6 cópias/mL de plasma. Respostas de anticorpos HIV-1 específicos e de linfócitos T-citotóxicos (CLT) ainda não se desenvolveram (Sleasman e Goodenow, 2003). Durante as semanas seguintes, o sistema imune gera repostas humorais e celulares, e então a viremia diminui por várias ordens de grandeza, até atingir um nível inferior estacionário (setpoint viral) (Eichelbaum, *et al.*, 2006).

A combinação da replicação viral sob pressão seletiva da resposta imune e a variabilidade genética do HIV-1 conduz ao rápido aparecimento de variantes de escape imunológico e contribui para o desenvolvimento da replicação crônica do HIV-1 (Sleasman e Goodenow, 2003), ao longo da fase assintomática, o HIV se replica continuamente nos compartimentos do corpo, evitando a resposta imune e induzindo um estado de inflamação crônica sistêmica (Fanales-Belasio *et al.*, 2010).

A progressão da doença depende da capacidade do hospedeiro para conter a replicação do vírus e para reconstituir o conjunto de células T de memória dentro da mucosa ou tecido linfóide. Há a destruição do sistema linfóide e o número de células T CD4 + continua a cair, frequentemente, para níveis inferiores a 200 células/mm³ de sangue, determinando o risco de aparecimento de infecções oportunistas (Sleasman e Goodnow, 2003), o que caracteriza o estado de AIDS. Durante a fase de AIDS, o número de células T CD4 + continua a diminuir. Com base nos últimos dados, a UNAIDS / OMS estimam que, na ausência de tratamento, o tempo médio desde o início da infecção até a morte relacionada com a AIDS, é de aproximadamente 11 anos (Fanales-Belasio *et al.*, 2010), a figura 5 mostra as três fases do curso clínico da infecção.

As causas que conduzem à perda de células CD4+ e o desenvolvimento da AIDS são multifatoriais. A melhor descrição conceitual da patogênese imunológica do HIV-1 tem sido o modelo de “torneira e ralo”, onde a “torneira” corresponderia à capacidade do timo em produzir novos linfócitos T-CD4+, e o “ralo” corresponderia às células CD4+ eliminadas através do desgaste induzido pelo vírus. O equilíbrio dinâmico entre a torneira e o ralo determina a velocidade e a extensão da deficiência imunológica (Sleasman e Goodenow, 2003).

Figura 5 - Curso Clínico da Infecção por HIV.



Fonte: Adaptado a partir de Fanale-Belasio *et al.*, 2010.

Notas: A infecção primária é marcada por uma alta viremia (linha tracejada) acompanhada de uma queda no número de linfócitos T CD4+ (linha sólida). Após o estabelecimento da resposta imune adaptativa ao HIV-1, há uma queda na viremia e uma leve recuperação das células CD4+, caracterizando o início da fase crônica. Ao longo dos anos, ocorre a falha gradual do sistema imune, havendo uma depleção progressiva das células CD4+ e consequente aumento da carga viral. A fase AIDS é estabelecida quando o número de células CD4+ encontra-se muito baixo (cerca de 200 cel/μl) aumentando o risco de infecções oportunistas e doenças constitucionais. Sem tratamento a infecção pelo HIV-1 leva o paciente a óbito.

2.2 TERAPIA ANTI-HIV

Após a descoberta do HIV-1, iniciou-se uma intensa pesquisa por parte da comunidade científica mundial com o propósito de desenvolver uma droga que contivesse a epidemia. Os avanços científicos resultaram na aprovação do primeiro antirretroviral, o AZT (azidotimidina ou zidovudina), em 1987 (De Cock *et al.*, 2011). Inicialmente o AZT se mostrou eficaz no combate à replicação viral, promovendo o aumento da qualidade e expectativa de vida das PVHA. Porém, logo observou-se que a monoterapia não era tão eficaz a longo prazo (Larder *et al.*, 1989), havendo muitos casos de efeitos adversos devido à toxicidade (Richman *et al.*, 1987) e resistência viral (Tang e Shafer, 2012; Larder *et al.*, 1995).

O aumento da sensibilidade/resistência ao AZT foi atribuído às mutações na TR do vírus, que poderia resultar numa diminuição da taxa de incorporação da droga. Além disso, o genoma do HIV-1 possui uma alta taxa de mutações, ocasionadas pela TR, a qual é sujeita a erros e não possui atividade revisora (inserindo um erro a cada ciclo replicativo, em média). Como bilhões de vírus são produzidos diariamente nas células infectadas, se houver o surgimento de uma variante com uma mutação que confira resistência ao medicamento, ela será selecionada devido à pressão seletiva imposta pela presença do antirretroviral. Com isso, essa variante logo crescerá em frequência, tornando o tratamento ineficaz (Tang e Shafer, 2012).

Dessa forma, o tratamento da infecção por HIV-1 com antirretrovirais individuais estava associado com apenas um período limitado de benefício, se tornando necessárias combinações de drogas que reduzissem a replicação do HIV-1 mais efetivamente e retardassem o aparecimento de resistência às drogas. Logo, vários estudos começaram a explorar a combinação do AZT com 3TC (lamivudina) (Boucher *et al.*, 1993; Eron *et al.*, 1995; Larder *et al.*, 1995) e os resultados observados deixavam cada vez mais claro que a monoterapia não era a melhor forma de suprimir a replicação viral. A partir daí, emergiu o conceito da “Terapia Antirretroviral Altamente Ativa” ou HAART (*Highly Active Antiretroviral Therapy*). Atualmente, as diretrizes internacionais para o tratamento antirretroviral recomendam uma combinação diária de três ou mais antirretrovirais para o tratamento de indivíduos infectados pelo HIV-1. Embora a HAART não possa erradicar a infecção pelo HIV, pode prevenir a progressão para a AIDS por suprimir o nível de replicação viral, o que ajuda a restaurar o sistema imune (Cressey e Lallemand, 2007).

Atualmente, existem mais de 27 drogas antirretrovirais distribuídas em seis classes (tabela 2), licenciadas para o tratamento de HIV-1: seis inibidores nucleosídicos e um nucleotídico da transcriptase reversa (INTRs), cinco inibidores da transcriptase reversa não nucleosídicos (INNTRs), nove inibidores de protease (IP), um inibidor de fusão, um antagonista do receptor de quimiocina tipo 5 (CCR5) e um inibidor de integrase (Tang e Shafer, 2012; U.S. Department of Health and Human Services, 2016).

De acordo com seu modo de ação, os antirretrovirais podem ser divididos em:

- Inibidores Análogos a Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (INTR): são análogos de nucleosídeos ou nucleotídeos que interrompem a síntese do material genético do vírus (Tang e Shafer, 2012).
- Inibidores Não-Análogos a Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (INNTR): impedem a síntese do material genético do vírus por se ligarem a sítios alostéricos da transcriptase reversa, inibindo sua atividade (Tang e Shafer, 2012).
- Inibidores da Protease (IP): interagem com a protease viral, impedindo o processamento correto das proteínas, abolindo sua infectividade (Tang e Shafer, 2012).
- Inibidores de Fusão (IF): ligam-se a proteínas de membrana celulares que servem de receptores ou co-receptores para o vírus, impedindo a fusão do vírus na membrana da célula hospedeira.
- Inibidor de Entrada – antagonista de CCR5: inibe alostericamente a ligação da gp120 do HIV-1 ao co-receptor CCR5 da célula hospedeira.
- Inibidor de integrase (INI): liga-se próximo ao sítio ativo da enzima perturbando o posicionamento correto do DNA viral em relação a ele, bem como a interação da enzima com os dois íons de magnésio essenciais.

Tabela 2 - Lista dos antirretrovirais atualmente disponíveis nos EUA aprovados pelo FDA.

Nome Genérico	Abreviação	Nome da Marca (EUA)
Inibidores Análogos a Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (INTRs)		
Abacavir	ABC	Ziagen®
Didanosina	ddl	Videx®
Emtricitabina	FTC	Emtriva®
Lamivudina	3TC	Epivir®
Stavudina	d4T	Zerit®
Tenofovir	TDF	Viread®
Zidovudina	AZT, ZDV	Retrovir®
Inibidores Não-análogos a nucleosídeos da Transcriptase Reversa (INNTRs)		
Delavirdina	DLV	Rescriptor®
Efavirenz	EFZ	Sustiva®
Etravirina	ETR	Intelence®
Nevirapina	NVP	Viramune®
Nevirapina liberação prolongada	NVP XR	Viramune® XR™
Rilpivirina	RPV	Edurant®
Inibidores de Protease (IP)		
Atazanavir	ATV	Reyataz®
Darunavir	DRV	Prezista®
Fosamprenavir	FPV	Lexiva®
Indinavir	IDV	Crixivan®
Lopinavir/Ritonavir	LPV/r	Kaletra®
Nelfinavir	NFV	Viracept®
Ritonavir	RTV/r	Norvir®
Saquinavir	SQV	Invirase®
Tipranavir	TPV	Aptivus®
Inibidores de Integrase (INIs)		
Dolutegravir	DTG	Tivicay®
Elvitegravir	EVG	Vitekta®
Raltegravir	RAL	Isentress®
Inibidor de Entrada - Antagonista de CCR5 (IE)		
Maraviroc	MVC	Selzentry®
Inibidor de Fusão (IF)		
Enfuvritida	ENF	Fuseon®

Fontes: Tang e Shafer, 2012; U.S. Department of Health and Human Services, 2016; FDA, 2016

Segundo as recomendações do Ministério da Saúde, o esquema de terapia inicial ou a primeira linha de tratamento deve sempre incluir três antirretrovirais (geralmente dois INTR/INTRt associados a um INNTR). Assim, até o final de 2016 o esquema terapêutico inicial era formado por: TDF+ 3TC + EFV (Tenofovir + Lamivudina + Efavirenz). Recentemente, o Dolutegravir (DTG) um antirretroviral da classe dos

inibidores de integrase (INI), foi incorporado no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS), passando a compor o esquema inicial preferencial conforme as recomendações do quadro (1), substituindo o Efavirenz (Ministério da Saúde, 2015b; Ministério da Saúde, 2017).

Quadro 1 - Tratamento antirretroviral para adultos vivendo com HIV/AIDS

Esquemas anti-HIV Preferenciais	
TDF ¹ + 3TC + DTG	Esquema para início de tratamento a partir de 2017
TDF ¹ + 3TC + EFZ	Esquema para início de tratamento nas seguintes situações ² : • Gestantes • Coinfecção TB-HIV sem critério de gravidade (conforme critérios elencados abaixo)
TDF ¹ + 3TC + RAL ³	Esquema para tratamento na coinfecção TB-HIV com um ou mais critérios de gravidade abaixo ² : • CD4 < 100 cels/mm³ • Presença de outra infecção oportunista • Necessidade de internação hospitalar/Doença grave • TB disseminada
Esquemas anti-HIV Alternativos	
TDF ¹ + 3TC + EFZ	Esquema alternativo para início de tratamento em caso de intolerância ou contraindicação ao DTG ⁴
TDF ¹ + 3TC + RAL	Esquema alternativo de tratamento em caso de intolerância ao EFZ, nas seguintes situações: - coinfecção TB-HIV - Gestantes
ABC ⁵ + 3TC + DTG	Esquema para início de tratamento em caso de contraindicação ao TDF em PVHA com teste negativo para HLA-B 5701

Fontes: Ministério da Saúde, 2015b; Ministério da Saúde, 2017

Notas:

¹ O AZT permanece como alternativa em casos de intolerância ao TDF e ABC;

² Realizar exame de genotipagem pré-tratamento e iniciar a TARV ;

³ Após o término do tratamento de TB ou parto, deverá ser feita a mudança para TDF+3TC+DTG

⁴ Contraindicações ao uso de DTG: PVHA em uso de fenitoína, fenobarbital, oxycarbamazepina

⁵ ABC é alternativa de tratamento em caso de contraindicação ao TDF em PVHA com teste negativo para HLA-B*5701 e CV < 100.000 cópias, quando associado ao EFZ

Em caso de falha no esquema inicial pode-se utilizar outras combinações de antirretrovirais, chamadas de segunda linha de tratamento ou esquema de resgate (Ministério da Saúde, 2015b). O número de antirretrovirais plenamente ativos disponíveis para compor o esquema de resgate, geralmente é diminuído a cada falha no tratamento, devido ao desenvolvimento de resistência viral ou de sensibilidade do paciente à determinada classe ou antirretroviral específico, utilizados no esquema terapêutico inicial. Portanto, é provável que a estruturação de um esquema de resgate, em caso de falhas sucessivas, seja mais complicada na medida em que pode requerer múltiplos antirretrovirais com atividade residual parcial e barreiras genéticas de resistência comprometidas, para alcançar a supressão virológica completa (Tang e Shafer, 2012). O quadro (2) abaixo sumariza as orientações do Ministério da Saúde (2015b) para a estruturação de esquemas de resgate.

Quadro 2 - Principais orientações para a estruturação de esquemas de resgate.

Orientações gerais para esquemas de resgate
1. Solicitar precocemente o teste de genotipagem; 2. Buscar sempre carga viral indetectável; 3. Manter a lamivudina (3TC), mesmo na presença de resistência (exceção: resgate com esquemas contendo abacavir e didanosina); 4. Incluir IP potencializado com ritonavir; 5. Considerar o efeito residual dos INTRs; 6. Não usar efavirenz ou nevirapina se já houve falha prévia, interrupção de tratamento prévio ou resistência documentada a esses medicamentos; 7. Evitar “monoterapia funcional”; 8. Basear as escolhas nos dados de resistência (analisar também as mutações dos testes anteriores), na história terapêutica do paciente (esquemas prévios e atuais) e nos dados de estudos clínicos; 9. Considerar nível de carga viral, contagem de LT-CD4+ e perfil de resistência à protease para avaliar a necessidade de adição de novas classes antirretrovirais; 10. Discutir ou encaminhar casos de multifalha ou resistência ampla.

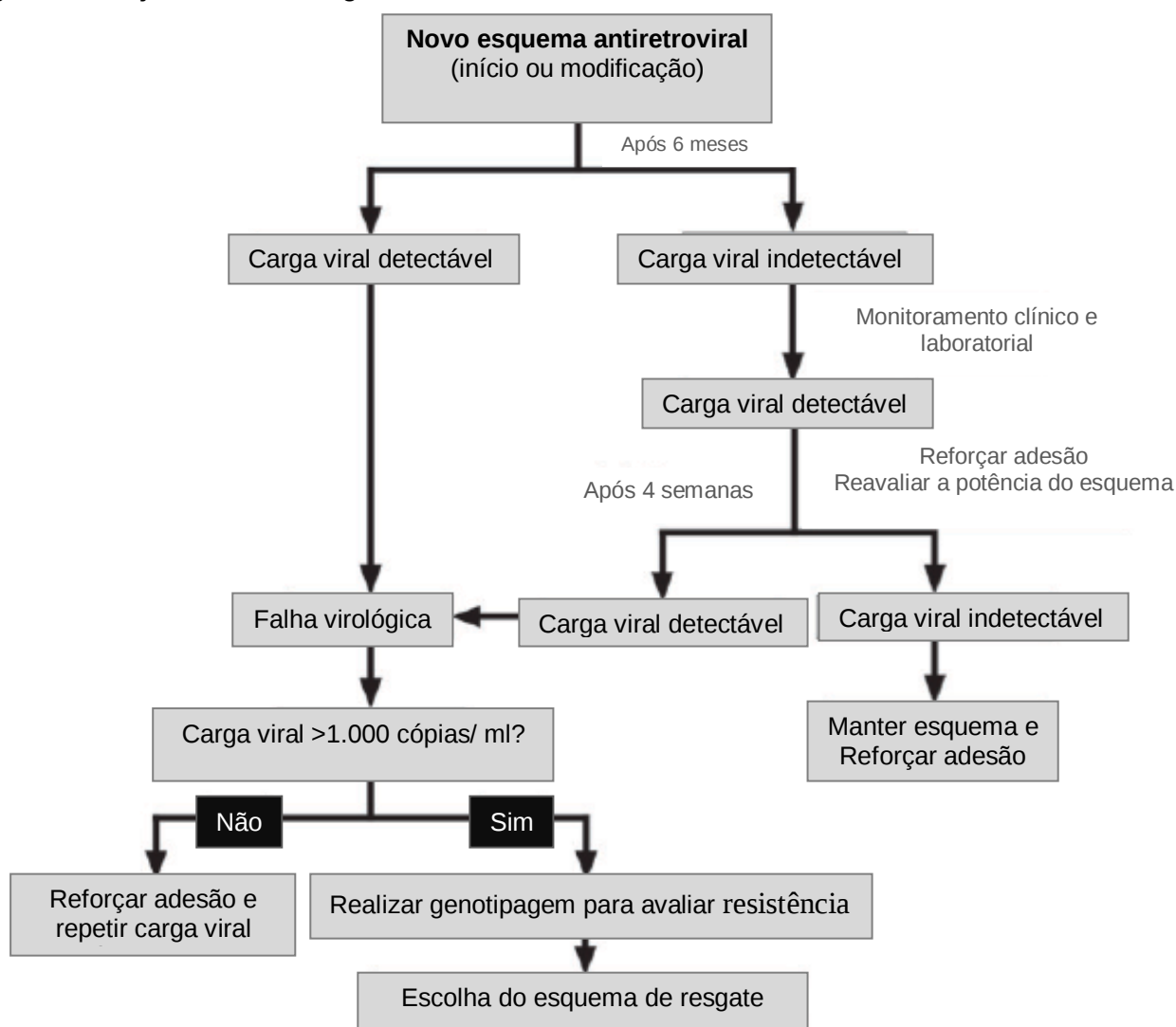
Fontes: Modificado de Ministério da Saúde, 2015b

2.3 FALHA VIROLÓGICA

O conceito de terapia personalizada é de interesse crescente na gestão da HAART e PVHAs, especialmente agora, que a terapia crônica pode contar com um

grande número de combinações possíveis, além de uma série de questões individuais como eficácia, toxicidade, tolerabilidade e falha (Aceti *et al.*, 2015). Apesar dos antirretrovirais atualmente disponíveis, eventuais falhas no tratamento reduzem as possibilidades de esquemas. Portanto, a otimização de cada antirretroviral dentro da TARV, maximizando a eficácia do fármaco e minimizando a toxicidade é fundamental para o sucesso do tratamento (Cressey e Lallemand, 2007). Neste cenário, o estudo das características farmacogenéticas pode ser uma ferramenta muito útil na prática clínica. Além disso, atualmente o estudo dos perfis genéticos permite otimizações no manejo terapêutico de PVHA (Figura 6) (Aceti *et al.*, 2015).

Figura 6. **Manejo da falha virológica**



Fonte: Adaptado de Ministério da Saúde, 2015b.

Não há uma definição padrão para a falha no tratamento antirretroviral: a falha pode ser definida por medidas clínicas, imunológicas e virológicas. Entretanto, desde que o objetivo da terapia antirretroviral é reduzir o número de cópias circulantes do vírus, o sucesso do tratamento pode ser definido mais especificamente pela supressão viral (Aldous e Haubrich, 2009). A falha virológica é caracterizada por carga viral plasmática detectável após seis meses do início ou modificação do tratamento antirretroviral, ou por detecção da carga viral nos indivíduos que a mantinham indetectável na vigência do tratamento. Em todos os casos, a viremia deve ser confirmada em coleta consecutiva após intervalo de pelo menos quatro semanas da anterior (Ministério da Saúde, 2015b).

A falha virológica pode reduzir os benefícios em relação à recuperação imunológica e aumentar o risco de progressão de doença, além de levar a emergência de resistência aos antirretrovirais. Portanto, deve ser o principal parâmetro para a definição de falha na terapia antirretroviral, particularmente após a terapia inicial (Ministério da Saúde, 2015b).

Embora nenhum ensaio tenha claramente estabelecido o exato limiar de carga viral necessário para alcançar benefícios clínicos sustentáveis, o consenso atual e evidências clínicas sugerem que o número de cópias de RNA viral deve ser mantido abaixo do limite de detecção (<50 cópias/mL) (Aldous e Haubrich, 2009).

Existem várias razões para a ocorrência de falha virológica (Quadro 3), incluindo uma adesão inadequada ao tratamento, fatores virológicos, imunológicos e farmacológicos (Cressey e Lallemand, 2007). Além deles, fatores genéticos tais como polimorfismos em genes envolvidos nas vias farmacocinética de ADME podem influenciar negativamente a resposta ao tratamento, pois podem afetar a expressão e/ou função das proteínas que interagem com a droga em vários níveis (Talentí e Zanger, 2008).

Apesar da baixa adesão ser, provavelmente, a principal causa de falha no tratamento, variabilidade farmacológica individual pode também desempenhar um papel importante. Interações medicamentosas, padrão de alimentação, sexo, idade, função renal/hepática e gravidez são fontes de variabilidade farmacológica (Cressey e Lallemand, 2007).

Quadro 3 - Fatores associados à falha terapêutica.

Fatores Associados à Falha Viroológica	
Baixa adesão ao tratamento	
Considerada uma das causas mais frequentes de falha virológica, a baixa adesão à HAART relaciona-se, sobretudo, à complexidade posológica e à ocorrência de efeitos adversos, devendo ser abordada em todos os pacientes em falha. Destaca-se que a supressão viral pode ser obtida, mesmo sem alteração da HAART, nos casos de falha associada à má adesão, precocemente identificados.	
Potência virológica insuficiente	
A utilização de esquemas subótimos, tais como terapia tripla contendo apenas INTR ou número insuficiente de medicamentos ativos, pode levar à supressão viral incompleta.	
Fatores farmacológicos	
Deve-se pesquisar a possibilidade de administração incorreta dos ARVs, tais como quebra de comprimidos, interações medicamentosas ou erros de prescrição, além de outros fatores que resultem em má absorção ou eliminação acelerada dos medicamentos.	
Resistência viral	
A resistência genotípica do HIV aos antirretrovirais pode ser identificada no momento da falha em até 90% dos casos, podendo ser tanto causa como consequência daquela.	

Fonte: Ministério da Saúde, 2015b.

Inúmeros estudos mostram que aproximadamente 80% dos pacientes alcançam carga viral plasmática inferior a 50 cópias/mL após um ano de tratamento e que essa supressão viral se mantém ao longo do tempo. Já os pacientes em falha virológica normalmente necessitam de alterações em seus esquemas anti-HIV. O reconhecimento precoce da falha virológica e a escolha adequada do novo esquema são fundamentais para minimizar as consequências da supressão viral parcial ou incompleta, que são:

1. elevação menos robusta e duradoura da contagem de LT-CD4+;
2. maior risco de progressão de doença;
3. seleção de mutações de resistência aos antirretrovirais e perda de futuras opções terapêuticas. Destaca-se que cerca de 60% dos pacientes mantidos sem supressão viral selecionam novas mutações de resistência em 18 meses (Ministério da Saúde, 2015b).

2.4 FARMACOGENÉTICA

2.4.1 Histórico, Conceito e Importância

Há muito tempo se sabe que existe variabilidade na resposta e grau de toxicidade a medicamentos, ou seja, qualquer medicamento administrado pode não funcionar como o esperado em alguns indivíduos e ainda acarretar efeitos adversos (Metzger *et al.*, 2006).

Ao longo das últimas décadas, surgiram evidências de que a variabilidade na resposta à fármacos pode ser devido a vários fatores como idade, nutrição, estado de saúde, exposição ambiental, terapia concorrente e variabilidade genética individual. Estas observações levaram ao nascimento de uma nova disciplina científica decorrente da confluência de genética, bioquímica e farmacologia, chamada de farmacogenética (Mancinelli *et al.*, 2000). Assim, mesmo antes que as técnicas modernas de biologia molecular permitissem determinar o perfil genético individual de receptores e enzimas metabolizadoras de fármacos, já se estudava os efeitos de tais variações sobre as diferentes respostas aos fármacos (Pessôa *et al.*, 2006).

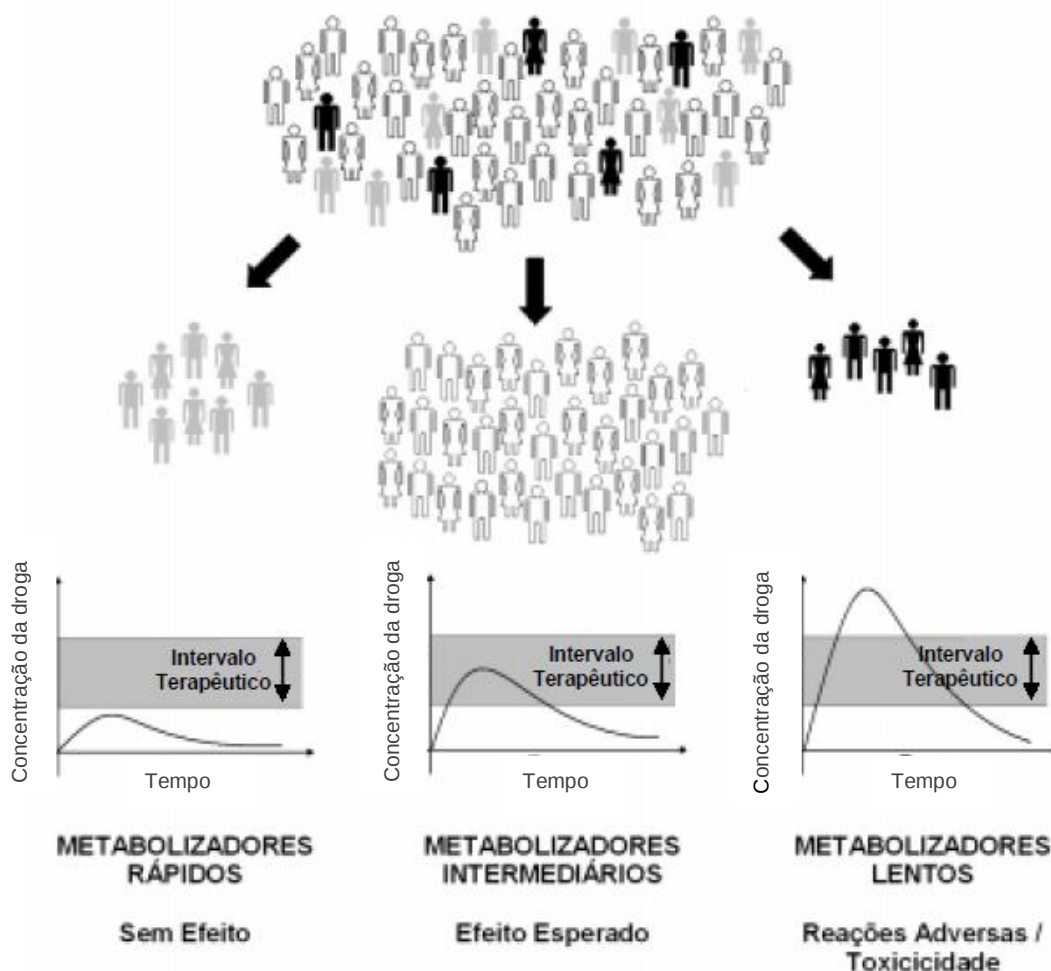
A farmacogenética estuda como polimorfismos genéticos em enzimas metabolizadoras, transportadoras ou receptores de medicamentos contribuem para as variações nas respostas a eles (Metzger *et al.*, 2006). O objetivo da farmacogenética é identificar genes candidatos, definir as diferenças nos genes candidatos entre os indivíduos, e correlacionar as alterações do fenótipo (definida por uma resposta específica a fármacos) com o genótipo do paciente (Aceti *et al.*, 2015).

Os fármacos são agentes que modificam as respostas biológicas normais e produzem efeitos farmacológicos. Esses efeitos são frequentemente dependentes da transferência dos fármacos através de uma ou mais membranas celulares (absorção) e da sua distribuição para os tecidos. Além disso, como os fármacos são substâncias xenobióticas, após a sua metabolização eles e seus subprodutos são excretados do organismo (Calvey, 2007; Telenti e Zanger, 2008).

O perfil metabólico de cada indivíduo pode ser alterado por tais polimorfismos, caracterizando os seguintes fenótipos: metabolizadores lentos, intermediários e rápidos (Figura 7). Os metabolizadores lentos, em geral, são indivíduos com

diminuição ou ausência da enzima metabolizadora, o que pode decorrer de deleção do gene ou instabilidade do RNA mensageiro. Os metabolizadores intermediários são os que apresentam metabolismo “normal”, comum a maioria da população. Já o fenótipo de metabolizadores rápidos pode ser decorrente de um aumento na produção da enzima metabolizadora associado a uma ou múltiplas duplicações do gene que codifica a enzima (Metzger et al., 2006).

Figura 7 - Efeito de polimorfismos genéticos sobre a farmacocinética dos fármacos



Fonte: Modificada de Metzger et al., 2006.

Notas: O fenótipo mais comum na população geral é o dos metabolizadores intermediários. Diferentes perfis genéticos podem levar aos fenótipos metabolizador rápido e metabolizador lento. O intervalo terapêutico é a zona de concentrações em que é observado o efeito farmacológico sem a observação de efeitos adversos, os quais passam a ser observados acima do intervalo terapêutico.

A determinação do perfil genético único do indivíduo em relação ao risco da doença e resposta à droga pode permitir que a terapia seja verdadeiramente personalizada, o conceito "do tratamento com o medicamento certo na dose certa no paciente certo" (Mancinelli et al., 2000).

2.4.2 Farmacologia dos Antirretrovirais

Como dito anteriormente, estudos farmacogenéticos exploram a contribuição da variabilidade genética individual na resposta à drogas fornecendo informações relevantes para a terapia personalizada (Bonifaz-Peña et al., 2014), portanto, há um crescente interesse na terapia anti-HIV personalizada, a fim de que se reduza os efeitos adversos, desenvolvimento de resistência aos medicamentos, baixa adesão e, conseqüentemente, a falha virológica. Os pacientes com um perfil farmacogenético desfavorável poderiam ser tratados com fármacos alternativos ou doses diferentes, por exemplo (Aceti et al., 2015).

Nesse contexto, polimorfismos genéticos em enzimas responsáveis pelo metabolismo de fármacos podem contribuir para a variabilidade dos níveis de antirretrovirais, mas a sua influência sobre cada medicamento irá variar de acordo com as propriedades farmacológicas da droga (Cressey e Lallemand, 2007). Além disso, alvos farmacológicos de medicamentos também exibem polimorfismos genéticos e isso também influencia na resposta à droga. Alelos variantes são conhecidos por ocorrer não apenas em genes que expressam as enzimas alvo, canais e receptores, mas também nos genes responsáveis pela transdução de sinal intracelular (Shah, 2005).

Os estudos de farmacogenética de antirretrovirais identificaram vários polimorfismos genéticos nos genes de metabolização e no transporte de fármacos de críticos que podem influenciar a farmacocinética de antirretrovirais (Tabela 3). Compreender a contribuição de polimorfismos específicos sobre a eficácia dos medicamentos antirretrovirais e/ou toxicidade pode levar a intervenções clínicas simples para otimizar a HAART (Cressey e Lallemand, 2007).

A resposta clínica à terapia anti-HIV é uma mistura de interações complexas que envolvem uma multiplicidade de fatores. Os fatores que modulam a exposição celular de uma droga são os principais determinantes da resposta à terapia anti-HIV e incluem as enzimas responsáveis pelo metabolismo dos agentes antirretrovirais e transportadores de drogas que podem limitar o acesso a estes agentes na circulação sistêmica, em células infectadas, e nos santuários de HIV-1 (Michaud et al., 2012).

Tabela 3 - Antirretrovirais por classe e vias metabólicas

Antirretroviral	Principais Vias de Transformação
Inibidores Análogos a Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (INTRs)	
Abacavir (ABC)	Metabolismo hepático desidrogenase alcoólica e UGT) e excreção renal
Didanosina (ddl)	Excreção renal (filtração glomerular e secreção tubular ativa)
Emtricitabina (FTC)	Excreção renal, oxidação e gluroconjugação limitadas (<10%)
Lamivudina (3TC)	Excreção Renal
Stavudina (d4T)	Excreção Renal
Tenofovir (TDF)	Excreção Renal (filtração e transporte tubular ativo)
Zidovudina (AZT, ZDV)	Glucuronidação (UGT2B7) e excreção renal
Inibidores Não-análogos a nucleosídeos da Transcriptase Reversa (INNTRs)	
Delavirdina (DLV)	P450 (CYP3A4)
Efavirenz (EFZ)	P450 (CYP3A4,CYP2B6)
Etravirina (ETR)	P450 (CYP3A4, CYP2C9,CYP2C19)
Nevirapina (NVP)	P450 (CYP3A4, CYP2B6)
Rilpivirina (RPV)	P450 (CYP3A4)
Inibidores de Protease (IP)	
Atazanavir (ATV)	P450 (CYP3A4)
Darunavir (DRV)	P450 (CYP3A4)
Fosamprenavir (FPV)	P450 (CYP3A4)
Indinavir (IDV)	P450 (CYP3A4)
Lopinavir (LPV)	P450 (CYP3A4)
Nelfinavir (NFV)	P450 (CYP3A4, CYP2C19, CYP2C9, CYP2D6)
Ritonavir (RTV/r)	P450 (CYP3A4, CYP2D6)
Saquinavir (SQV)	P450 (CYP3A4)
Tipranavir (TPV)	P450 (CYP3A4)
Inibidores de Integrase (INIs)	
Dolutegravir (DTG)	Glucorinidação (UGT1A1) e P450 (CYP3A4)
Elvitegravir (EVG)	P450 (CYP3A) e glucurinação (UGT1A1/3)
Raltegravir (RAL)	Glucuronidação (UGT21A1)
Inibidor de Entrada - Antagonista de CCR5 (IE)	
Maraviroc (MVC)	P450 (CYP3A4)
Inibidor de Fusão (IF)	
Enfurvitida (ENF)	Catabolismo de aminoácidos

Fonte: Adaptado de Floridia et al., 2008 e U.S. Department of Health and Human Services, 2016.

Dentre as superfamílias gênicas que codificam para proteínas importantes nas vias de farmacocinética de antirretrovirais, estão a superfamília ABC (ATP-

binding cassette ou cassete ligante de Adenosina Trifosfato, ATP) a qual codifica proteínas de membrana responsáveis pela translocação de uma ampla variedade de substratos através das membranas extra e intracelulares, incluindo produtos metabólicos, lipídios, esteróis e drogas (Dean, 2002) e a superfamília CYP, formada por proteínas produzidas a partir dos genes dos citocromos P450 envolvidos na síntese e metabolismo de várias moléculas e substâncias químicas no interior das células (Ingelman-Sundberg *et al.*, 2007).

As enzimas dos citocromos P450 e os transportadores (famílias CYP e ABC) desempenham um papel importante sobre o que acontece com os agentes antirretrovirais no corpo e na capacidade destes fármacos atingirem os tecidos alvo que contém reservatórios do HIV-1 (Dean *et al.*, 2001). Como tal, as interações fármaco-fármaco e a presença de polimorfismos genéticos envolvidos no metabolismo de drogas ou de transporte contribuem significativamente para a variabilidade inter e intra-individual em resposta antirretroviral. A gestão das PVHA em HAART é complexa e exige familiaridade com sistemas relacionados com virologia, P450, UGTs e transportadores de membrana para otimizar a terapia e minimizar os efeitos adversos (Michaud *et al.*, 2012).

2.4.3 Superfamília ABC

A superfamília ABC (cassetes ligantes de ATP) representa a maior família de proteínas transmembranares (TM) e contém 49 genes descritos em humanos (Sarkadi *et al.*, 2004). Estas proteínas ligam-se a ATP e usam sua energia para conduzir o transporte de várias moléculas em todas as membranas celulares. Os genes ABC desempenham um papel importante na resistência a múltiplas drogas (MDR), e, pelo menos, seis genes estão associados com o transporte de fármacos (Dean *et al.*, 2002).

OS transportadores ABC são encontrados em muitas células epiteliais e endoteliais, onde participam na absorção e excreção de vários fármacos. Tais transportadores também agem como uma barreira, limitando a distribuição de drogas em certos tecidos. A presença de polimorfismos em genes que codificam para os transportadores de drogas está associada a uma modulação da farmacocinética dos agentes antirretrovirais que eles transportam. Como os transportadores ABC contribuem para o efluxo de INTRs, a farmacocinética dessa

classe antirretroviral pode ser modulada por polimorfismos nos genes desta superfamília (Michaud *et al.*, 2012).

Dentre as principais proteínas desta família relacionadas com a farmacocinética de antirretrovirais temos: ABCB1 (glicoproteína-p), ABCC1 (proteínas associadas à resistência multidrogas) e ABCG2 (proteína de resistência do câncer de mama) (Michaud *et al.*, 2012).

O gene *ABCB1* está localizado no cromossomo 7q21.12, possui cerca de 210 kb, e contém 29 éxons (Swart *et al.*, 2012). Conhecido como gene do transportador de multiresistência a drogas (*MDR1*), ele codifica para glicoproteína-P (Pgp). Esta proteína tem um papel importante no transporte de muitos substratos, incluindo alguns antirretrovirais, a nível de compartimentos e células (Fellay *et al.*, 2002). Assim como os outros membros da família ABC, as Pgp são proteínas integrais de membrana e funcionam como uma bomba de efluxo de droga dependente de energia e reduz as concentrações de uma vasta gama de fármacos e xenobióticos. Uma vez que muitos fármacos são substratos da Pgp, o seu grau de expressão e funcionalidade afeta diretamente a eficácia terapêutica destes agentes (Bordor *et al.*, 2005).

O transportador Pgp é expresso principalmente no fígado, intestino delgado, rins e na barreira hematoencefálica, estando envolvido na proteção das células contra agentes tóxicos (Dean *et al.*, 2001; Michaud *et al.*, 2012). Vários medicamentos antirretrovirais aprovados pela FDA, incluindo o efavirenz, indinavir, nelfinavir e ritonavir são afetados pelas atividades da P-gp (Swart *et al.*, 2012). Variantes alélicas desse gene têm sido associadas com a variação da concentração plasmática de efavirenz e nelfinavir, recuperação imunológica após o início da HAART e variabilidade dos níveis de supressão do HIV-1 (Fellay *et al.*, 2002; Swart *et al.*, 2012).

A subfamília ABCC contém 12 transportadores completos que desempenham funções no transporte de íons, secreção de toxinas, e a transdução de sinais (Dean *et al.*, 2002). O gene *ABCC1* é membro 1 dessa subfamília, com a localização cromossômica 16p13.1 e possui 33 éxons. Semelhante a *ABCB1*, *ABCC1* transporta e confere resistência a uma grande variedade de substratos tóxicos, mas não é essencial para o crescimento ou desenvolvimento (Dean *et al.*, 2001). Os transportadores ABCC (MRP), desempenham um papel importante na distribuição de agentes antirretrovirais, participando ativamente no efluxo de drogas a partir de

células que contribuem para o fenômeno de resistência a drogas. Os transportadores ABCC1, -2, -4 e -5 estão entre os mais importantes na família ABCC, com a capacidade de influenciar a resposta aos agentes antirretrovirais (Michaud *et al.*, 2012). Diversas variantes genéticas têm sido identificadas nos genes de transportadores pertencentes à subfamília ABCC. No entanto, o papel dos polimorfismos em *ABCC1* na farmacocinética sistêmica e intracelular e na resposta virológica ainda não foi claramente estabelecido (Michaud *et al.*, 2012).

O gene *ABCG2* está localizado no cromossomo 4q22 e possui 19 éxons, faz parte da subfamília G (membro 2) dos transportadores ABC. A proteína *ABCG2* humana é claramente um transportador multi-tarefa, tem papéis importantes numa variedade de funções fisiológicas e patológicas. Proteção de tecidos, incluindo as células-tronco, contra xenobióticos e hipóxia, modulação da absorção e distribuição de drogas, são os lados positivos da expressão *ABCG2* (Sarkadi *et al.*, 2004).

O transportador *ABCG2* tem distribuição nos tecidos semelhante ao do *ABCB1*. Com efeito, ele é expresso na placenta, intestino delgado, fígado, linfócitos, barreira hematoencefálica, tecido mamário e células estaminais hematopoiéticas (Michaud *et al.*, 2012). A função de distribuição celular e tecidual e efluxo de *ABCG2* pode ser crítica na absorção, distribuição, e a eficácia de agentes anti-HIV-1 (Pan *et al.*, 2007). Vários antirretrovirais são substratos sujeitos a efluxo por essas proteínas tais como raltegravir, abacavir, zidovudina e outros INTRs (Tsuchiya *et al.*, 2014; Pan *et al.*, 2007; Michaud *et al.*, 2012). Outros componentes da HAART, como os IPs, tais quais ritonavir, saquinavir, nelfinavir foram encontrados como sendo inibidores eficazes deste transportador de efluxo (Pan *et al.*, 2007).

O papel do transportador *ABCG2* na terapia anti-HIV não é bem definido, e estudos são necessários para estabelecer a contribuição de *ABCG2* como um modulador da farmacocinética dos inibidores da transcriptase reversa e influência na resposta virológica (Michaud *et al.*, 2012).

2.4.4 Superfamília CYP

O citocromo P450 representa uma superfamília de isoenzimas responsáveis pela biotransformação de muitas drogas (Ogu *et al.*, 2000). As enzimas do citocromo P450 (CYP) são hemoproteínas responsáveis pelo metabolismo oxidativo de grande número de compostos endógenos e exógenos. Existem mais de 30 famílias de CYP

metabolizadoras de fármacos em humanos e todas possuem variações genéticas (Pessôa *et al.*, 2006). Embora a maioria das isozimas esteja localizada no fígado, o metabolismo extra-hepático também ocorre em rins, pele, trato gastrointestinal e pulmões (Ogu *et al.*, 2000). Os citocromos P450 (CYP) são uma importante fonte de variabilidade na farmacocinética e resposta à drogas. De 57 CYP humanos supostamente funcionais apenas cerca de uma dúzia de enzimas, pertencentes às famílias CYP1, 2 e 3, são responsáveis pela biotransformação da maioria das substâncias estranhas, incluindo 70-80% de todos os medicamentos em uso clínico, inclusive muitos agentes antirretrovirais (Zanger e Schwab, 2013; Floridia *et al.*, 2008; Michaud *et al.*, 2012).

A expressão e atividade variável de P450 contribuem para variações inter e intra-individual na metabolização de drogas, eficácia e toxicidade. Isoformas de P450 diferem entre si no grau de expressão no tecido, seletividade para os tecidos, seletividade para com os seus substratos, e as reações que catalisam. Cada isoforma tem uma afinidade para determinados substratos; a atividade pode ser alterada pela co-administração de outros substratos e por inibidores seletivos ou indutores. Além disso, alguns polimorfismos em genes que codificam para as enzimas P450 contribuem significativamente para a variabilidade interindividual na resposta à droga (Michaud *et al.*, 2012).

Na verdade, CP450 é o principal sistema de enzimas envolvidas no metabolismo de INNTRs, IPs, do antagonista do correceptor CCR5 (Maraviroc), e o inibidor da integrase, elvitegravir (Michaud *et al.*, 2012). Os IPs e INNTRs são metabolizados principalmente por CYP3A4 (com CYP2D6 e CYP2C9 também envolvidos no metabolismo do ritonavir, CYP2B6 e CYP2D6 envolvidos no metabolismo da nevirapina e CYP2B6 principal responsável pelo metabolismo do efavirenz) (Ofotokun, 2005; Swart *et al.*, 2012).

O gene *CYP1A2* é o membro 2 da subfamília A da família 1 do citocromo P450, localizado no cromossomo 15q24.1, possui 7 éxons e tem sido associado com a progressão da AIDS (Mhandire *et al.*, 2015) e redução da eficácia de agentes antidepressivos e antipsicóticos que são comumente utilizados por PVHA através da indução do CYP1A2 por combinações de IP (LPV/r) (Yeh *et al.*, 2006).

Membro 6 da subfamília A da família 2 do citocromo P450, o gene *CYP2A6*, está localizado no cromossomo 19q13.2, possui 9 éxons. Polimorfismos neste gene estiveram associados com variação das concentrações plasmáticas de Efavirenz

(Zhang *et al.*, 2010; Kwara *et al.*, 2008) e Nevirapina levando a neurotoxicidade e hepatotoxicidade, respectivamente (Colic' *et al.*, 2014).

A enzima hepática 2B6 do citocromo P450 é codificada pelo gene *CYP2B6*, localizado no cromossomo 19q13.2 contendo 11 éxons. Tal enzima tem um importante papel na hidroxilação de nevirapina e efavirenz (Sarfo *et al.*, 2013; Mehlotra *et al.*, 2011) estando relacionada, principalmente, com o metabolismo deste último (Gandhi *et al.*, 2012; Haas *et al.*, 2009; Holzinger *et al.*, 2012).

Os genes que codificam para a subfamília CYP3A estão localizados no cromossomo 7 e possuem cerca de 200 Kb, *CYP3A4* é a principal isoforma em seres humanos adultos, e é expresso principalmente no fígado e no epitélio intestinal. Ele pode metabolizar uma ampla gama de substratos e, assim, a variabilidade na sua expressão ou atividade pode ter implicações clínicas significativas (Perera *et al.*, 2009). A isoenzima CYP3A4 é uma das principais metabolizadoras de etravirina (INNTR), além de estar predominantemente envolvida no metabolismo de todos os IPs e de maviroc (Pavlos e Philips, 2012). Todos os IPs atualmente disponíveis aprovados pelo FDA são metabolizados por CYP3A4 (Jayakanthan *et al.*, 2010; Inaba *et al.*, 1997).

Diante da possível influência do perfil genético individual na resposta aos antirretrovirais utilizados no primeiro esquema da terapia anti-HIV, o presente estudo tem como objetivo avaliar se a presença de determinados polimorfismos em genes pertencentes às superfamílias ABC e CYP, poderia estar associada ao risco de falha virológica. Nossa investigação se baseia na hipótese de que tais polimorfismos poderiam alterar a expressão dos genes avaliados e, conseqüentemente, alterar a quantidade ou função dos seus produtos, que neste caso, correspondem à proteínas que participam no transporte e biotransformação de antirretrovirais.

2.5 OBJETIVOS

2.5.1 Objetivo Geral

Avaliar se polimorfismos em genes envolvidos nas vias de farmacocinética de drogas utilizadas no primeiro esquema terapêutico anti-HIV estão associados à falha virológica.

2.5.2 Objetivos Específicos

- Avaliar se diferentes perfis genéticos estão mais relacionados à falha da supressão virológica na terapia, analisando se há associação dos polimorfismos *ABCB1* rs1128503; *ABCB1* rs2253048; *ABCG2* rs2231142; *ABCC1* rs129081; *CYP1A2* rs762551; *CYP3A4* rs4646437; *CYP2A6* rs8192726; *CYP2B6* rs1042389; *CYP2B6* rs707265;
- Elaborar um modelo de regressão logística que possa prever a probabilidade de falha virológica na terapia anti-HIV.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 DESENHO DO ESTUDO

O tipo de estudo escolhido para realização do trabalho foi o caso-controle, que de acordo com Schulz e Grimes (2002) estudos de caso-controle incorporam as forças e as fraquezas da epidemiologia observacional e podem ser usados para avaliar uma enorme variedade de associações. Nestes tipos de estudo, os grupos casos são definidos pelo desfecho/resultado clínico, enquanto que os controles devem representar a população em risco de se tornar caso.

O grupo caso é representado por PVHA que estão em HAART, porém apresentaram falha na supressão viral (falha virológica) após seis meses de terapia, enquanto que o grupo controle é representado pelas PVHA que apresentaram sucesso virológico mediante a HAART.

Os critérios gerais de inclusão para o estudo foram: idade entre 18 e 50 anos, terapia anti-HIV por pelo menos seis meses (com o mesmo esquema e com dados de acompanhamento dos exames e recebimento dos medicamentos), boa adesão à terapia (sem interrupções significativas) e não haver presença de co-infecções ou doenças sistêmicas crônicas pré-existentes.

Os pacientes que apresentaram carga viral plasmática detectável após seis meses do início ou modificação da terapia anti-HIV foram incluídos no grupo caso. A detecção da carga viral nos indivíduos que a mantinham indetectável na vigência da terapia também foi um critério para a inclusão neste grupo. Já aqueles pacientes cuja carga viral, após seis meses de terapia, apresentou-se indetectável (abaixo de 50 cópias/ml de plasma sanguíneo) foram incluídos no grupo controle (Ministério da Saúde, 2015b).

A adesão à terapia foi estimada indiretamente pela *Medication Possession Ratio* (MPR) (Fairman e 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. Segundo os autores da MPR, uma adesão ótima é definida como MPR ≥ 80 .

3.2 POPULAÇÃO DO ESTUDO

Nosso grupo total de estudo foi formado por 137 PVHA em atendimento no Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), cada paciente foi convidado individualmente para participar do estudo e foi apresentado um termo de consentimento (Anexo 1) acompanhado de um questionário com abordagem epidemiológica (Anexo 2), com intuito de autorizar o uso da amostra de sangue periférico cedida pelos pacientes.

3.3 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos do Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira - IMIP, parecer número 2273-11 (Anexo 3), 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.

3.4 VARIÁVEIS ESTUDADAS

3.4.1 Variáveis Clínicas e epidemiológicas

As variáveis clínicas e epidemiológicas selecionadas incluem aquelas que possivelmente influenciam o desfecho da terapia antirretroviral tais como: gênero, idade, etnia, massa corporal no início do tratamento, carga viral e contagem de células TCD4+ pré-tratamento, tempo entre o diagnóstico e início da terapia. O uso de zidovudina (AZT) e de inibidores de protease (IP) nos esquemas terapêuticos também foi levado em consideração nas análises.

3.4.2 Polimorfismos Genéticos

Os genes candidatos foram selecionados através de busca na literatura, levando em consideração suas funções dentro das vias farmacocinéticas ADME de antirretrovirais. Para seleção dos polimorfismos dos genes candidatos, foram utilizados bancos de dados como 1000genomes Project Browser

(<http://browser.1000genomes.org>), SNPnexus (www.snp-nexus.org) e Human Cytochrome P450 (CYP) Alleles Nomenclature (www.cypalleles.ki.se), todos com MAF (*Minimum Allele Frequency* ou frequência do alelo menor) superior a 0,10. Foram escolhidos nove polimorfismos em sete genes que codificam para proteínas envolvidas na farmacocinética (transporte através da membrana e metabolização) de antirretrovirais que podem estar associados à falha virológica da terapia anti-HIV: rs1128503 (G>A; sinônimo) e rs2235048 (A>G; intergênico) em *ABCB1*, rs2231142 (G>A; não-sinônimo) em *ABCG2*, rs129081 (C>G; 3'UTR) em *ABCC1*, rs762551 (A>C, intrônico) em *CYP1A2*, rs4646437 (G>A, intrônico) em *CYP3A4*, rs8192726 (C>A, intrônico) em *CYP2A6*, rs1042389 (A>G; 3'UTR) e rs707265 (G>A; 3'UTR) em *CYP2B6* (Tabela 4).

Tabela 4. Tabela resumindo os sete genes utilizados no estudo e seus respectivos polimorfismos (SNPs), bem como a localização desses SNPs dentro do genoma e seu significado biológico.

Gene	SNP	Localização	Significado Biológico	Referências
<i>ABCB1</i>	rs1128503	87179601	Sinônimo	Keskitalo <i>et al.</i> , 2009 Kim <i>et al.</i> , 2014 Nishijima <i>et al.</i> , 2014 Swart <i>et al.</i> , 2012
	rs2235048	87138511	Intergênico	Soranzo <i>et al.</i> , 2004
<i>ABCG2</i>	rs2231142	89052323	Não-sinônimo	Kasza <i>et al.</i> , 2012 Zhu <i>et al.</i> , 2013
<i>ABCC1</i>	rs129081	16235939	3'UTR	
<i>CYP1A2</i>	rs762551	75041917	Intrônico	Li <i>et al.</i> , 2014 Mhandire <i>et al.</i> , 2015
<i>CYP3A4</i>	rs4646437	99365083	Intrônico	Wang e Sadee, 2012 Perera <i>et al.</i> , 2009
<i>CYP2A6</i>	rs8192726	41354496	Intrônico	Kwara <i>et al.</i> , 2009 Kwara <i>et al.</i> , 2011
<i>CYP2B6</i>	rs1042389	41524153	3'UTR	Frasco <i>et al.</i> , 2012 Haas <i>et al.</i> , 2009
	rs707265	41524087	3'UTR	Swart e Dandara, 2014

3.5 EXTRAÇÃO DE DNA

A extração do DNA genômico foi realizada utilizando-se o *Genomic Prep Blood DNA isolation kit* (método *salting out*), de acordo com as instruções do fabricante (*Promega*). O protocolo utilizado está descrito a seguir.

Após a coleta das amostras de sangue em tubos EDTA, procedeu-se a centrifugação das mesmas a 3000 RPM por dez minutos. Após a centrifugação separou-se o plasma, que foi transferido para eppendorfs e armazenado a -80 °C. O volume retirado de plasma foi repostado com solução salina 0,9 M, ajustando o volume total para 5 mL. Transferiu-se as amostras para tubos falcon de 50 mL, acrescentando-se 25 mL da solução A (tabela 5), os tubos foram então homogeneizados por inversão ou agitação em vórtex, e incubados no banho-maria a 37 °C por quinze minutos. Os tubos foram novamente centrifugados a 2500 RPM por dez minutos, o sobrenadante foi eliminado, restando apenas o pellet no fundo do tubo. O pellet foi lavado delicadamente com solução salina 0,15 M e o tubo centrifugado por 2 a 3 vezes. Após a etapa de lavagem, foram adicionados 500 µL da solução B (tabela 6), o pellet foi ressuscitado e a mistura transferida para um eppendorf e incubada a 60°C por quinze minutos. Após a incubação, acrescentou-se 500 µL de solução salina 6 M e o tubo foi agitado em vórtex por vinte segundos, em seguida centrifugado a 2500 RPM por quinze minutos. O sobrenadante resultante foi transferido para um novo eppendorf, ao qual foram adicionados 500 µL de isopropanol absoluto gelado. O eppendorf foi agitado e levado para centrifugar a 2500 RPM por quinze minutos. O isopropanol foi descartado e acrescentou-se etanol a 70% para posterior centrifugação a 2500 RPM por cinco minutos. O etanol foi então descartado e o tubo foi deixado para enxugar por quinze minutos, após esse período acrescentou-se 100 µL do tampão TE e os tubos foram armazenados em temperatura ambiente overnight.

Tabela 5 - Solução A: Composição do tampão de hemólise utilizado para lisar as células sanguíneas.

Material	Concentração (pH)	Volume
Tris-HCL	1 M (7,6)	250 µL
MgCl ₂	0,5 M	250 µL
NaCl	5M	50 µL
Água ultrapura	-	Completar para 25 mL

Tabela 6 - Solução B : composição do tampão de desnaturação de proteínas.

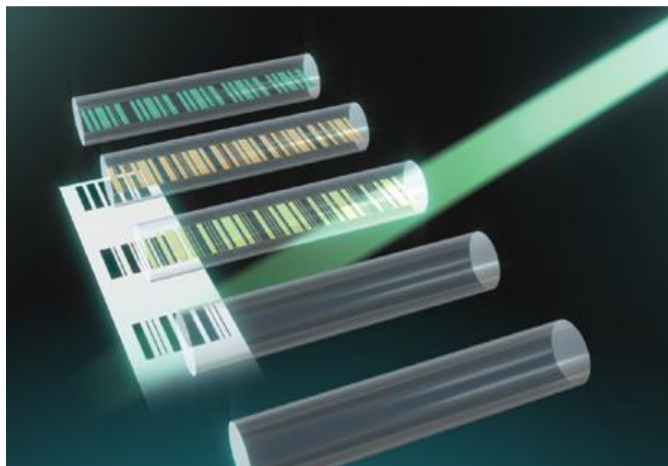
Material	Concentração (pH)	Volume
Tris-HCL	1 M (8,0)	5 µL
NaCl	5 M	10 µL
EDTA	0,5 M (8,0)	10 µL
SDS	10% m/v	25 µL
Proteinase K	20 mg/mL	2 µL
Água ultrapura	-	448 µL

3.6 GENOTIPAGEM

A genotipagem dos polimorfismos candidatos foi realizada utilizando a plataforma chip VeraCode® da Illumina, onde foi customizado um chip Illumina contendo os nove SNPs alvos deste estudo. A genotipagem foi realizada em parceria com a Universidade de Trieste, Itália. A técnica utilizada pela Illumina está descrita a seguir.

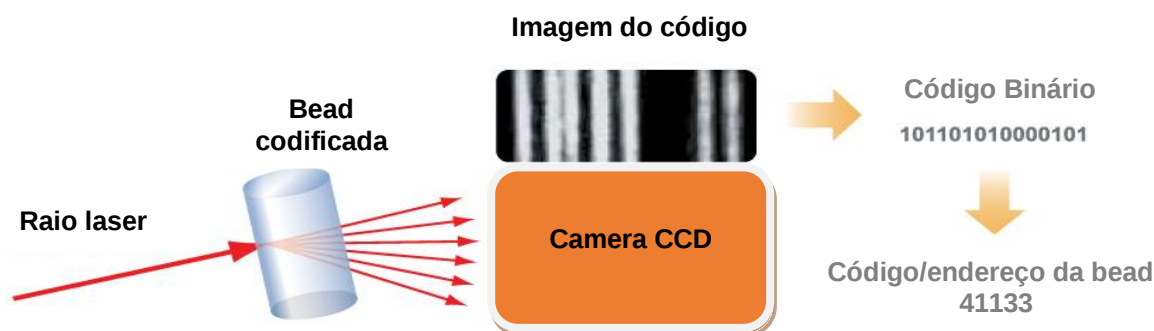
A tecnologia VeraCode® usa microbeads cilíndricas de vidro (240 microns de comprimento por 28 microns de diâmetro) que possuem elementos holográficos digitais precisamente inseridos em seu interior. Quando excitada por um laser, a bead emite uma imagem de código única, permitindo uma detecção rápida e específica (Figura 8 e 9). Os ensaios desenvolvidos para as beads VeraCode são analisados com o leitor BeadXpress® da Illumina, um sistema de detecção a laser de duas cores e alto rendimento. Este leitor verifica as beads por seu código e sinais de intensidade de fluorescência, executa análise de dados usando o software BeadStudio da Illumina ou outros programas de terceiros.

Figura 8 - Bead VeraCode.



Nota: Cada bead Illumina VeraCode® contém um código que permite a identificação do tipo de bead. Esta informação é combinada com a leitura do ensaio para as análises posteriores.

Figura 9 - Processo de inscrição da bead VeraCode.



Nota: O código digital VeraCode é formado usando um processo de inscrição holográfica. A imagem holográfica em cada bead difrata um raio laser em múltiplos componentes. Esses componentes compõem a assinatura ótica do código da bead, que o BeadXpress Reader analisa.

O primeiro passo do ensaio é a ativação do DNA, permitindo que as amostras de DNA genômico se liguem a partículas paramagnéticas (figura 10a), esta ativação é altamente robusta e requer apenas 250 ng de DNA genômico. Os oligonucleótidos do ensaio, tampão de hibridação e partículas paramagnéticas são combinados com o DNA ativado no passo de hibridação (figura 10b).

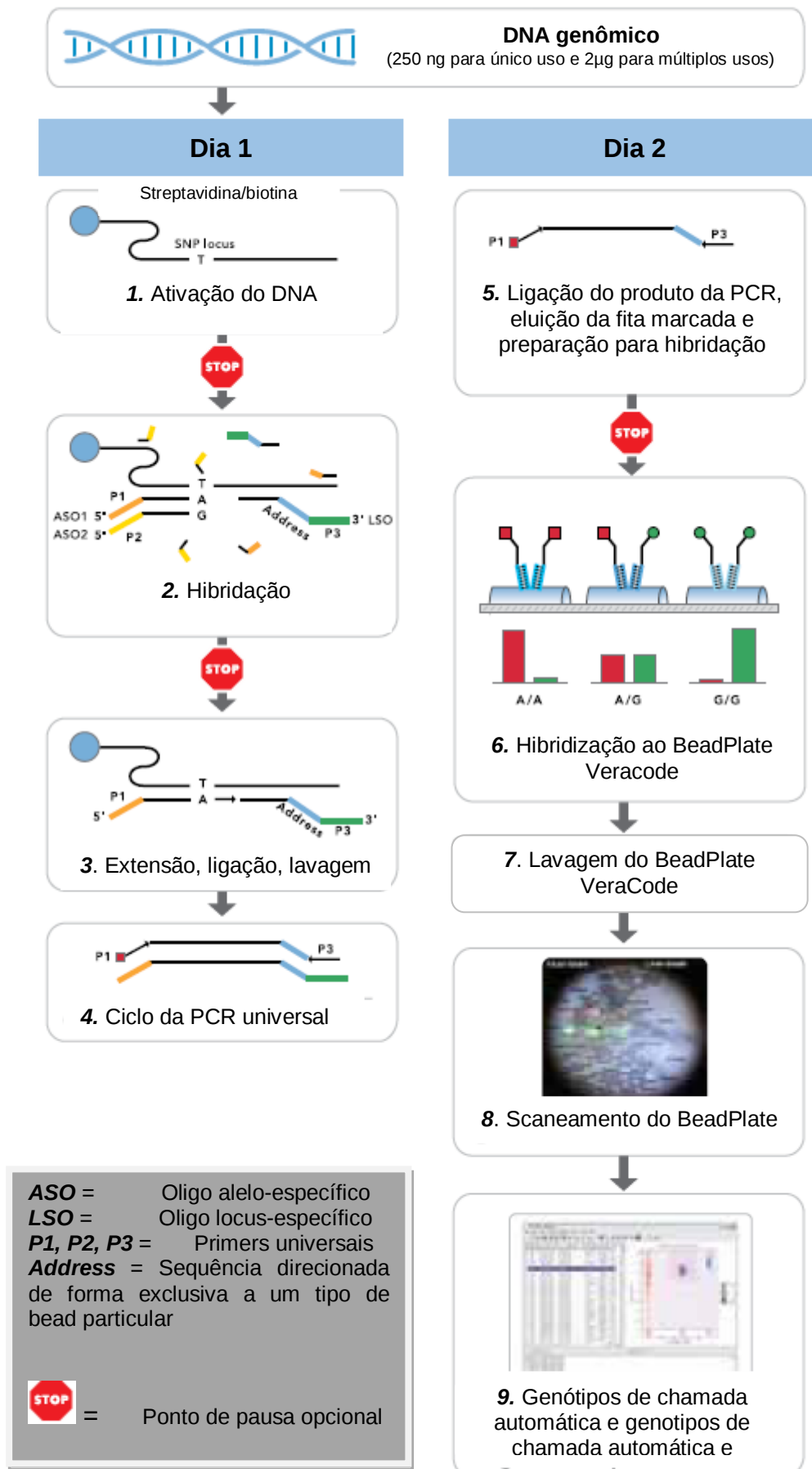
Três oligonucleótidos são projetados para cada locus do SNP, dois são alelo-específicos ou ASO (*Allele-Specific Oligonucleotides*), enquanto o outro é locus-específico ou LSO (*Locus-Specific Oligonucleotides*), este último hibridiza várias bases à jusante do sítio do SNP. Todas as três sequências de oligonucleótidos contêm sítios para primers universais de PCR; O LSO contém uma sequência de localização única que se dirige a um tipo de microbead VeraCode® particular.

Durante o processo de hibridação do primer, os ASOs e LSOs hibridam com a amostra de DNA genômico ligada à partículas paramagnéticas. Após a hibridação, são realizados vários passos de lavagem, removendo os oligonucleótidos em excesso e não hibridizados. A extensão do ASO apropriado e a ligação do produto estendido ao LSO, combinam informações sobre o genótipo presente no sítio do SNP para a sequência de localização no LSO (Figura 10c).

Os produtos de ligação servem como templates de PCR para primers universais P1, P2 e P3. Os primers P1 e P2 são marcados com CY3 e CY5, respectivamente (figura 10d). Após o processamento a jusante, os produtos de PCR marcados com corantes simples são hibridizados, ao seu tipo de bead complementar através de suas sequências de localização únicas (figura 10e). A hibridação dos produtos do ensaio à beads VeraCode® separa os produtos do ensaio para leituras individuais de genótipos dos SNPs (figura 10f).

Após a hibridação, o BeadXpress Reader® é usado para identificação do código das microbeads e detecção de sinal fluorescente (figura 10h). Durante a varredura, um raio laser penetra na microbead com a inscrição digital e gera uma imagem de código única, que permite uma detecção rápida e altamente específica. Os dados gerados com o leitor de beads podem ser analisados com o software de análise de dados GenomeStudio da Illumina (figura 10i), que realiza agrupamento automatizado de genótipos ou por outros softwares de terceiros.

Figura 10 - Ensaio de genotipagem com a tecnologia Veracode.



3.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises estatísticas foram realizadas com auxílio do software R para Windows. Para avaliar se determinados valores de variáveis categóricas estariam associados com a ocorrência de falha virológica foi usado o teste Exato de Fisher. O modelo de Regressão Logística foi utilizado para testar a associação das variáveis genéticas, clínicas, epidemiológicas e esquemas terapêuticos com a ocorrência de falha virológica, em uma análise multivariada. Para avaliar se o número de células T CD4+, carga viral e massa corporal pré-tratamento estariam associados com a posterior falha terapêutica foi utilizado o teste de Wilcoxon ou Mann-Whitney.

O modelo de regressão logística tem o objetivo de explicar o risco de falha virológica, baseando-se em fatores genéticos, quando controlados pelas variáveis clínicas expostas anteriormente.

4 RESULTADOS

4.1 ANÁLISES DAS VARIÁVEIS CLÍNICAS E EPIDEMIOLÓGICAS

As características clínicas e epidemiológicas dos 137 pacientes que participaram do estudo estão especificadas na tabela (Tabela 7). O gênero e a etnia (autodeclarada) não estiveram significativamente associados à ocorrência de falha virológica ($p = 0,45$). A massa corporal dos pacientes foi praticamente a mesma entre os grupos, com mediana de 64,5kg no grupo caso e 62kg no grupo controle. A idade no início do tratamento teve mediana de 33 anos no grupo dos casos e 30 anos no grupo controle ($p=0,13$), e o tempo entre o diagnóstico e o início da terapia variou entre 1 e 18,5 meses, com mediana de 5 e 4 meses nos grupos caso e controle, respectivamente ($p=0,95$). Carga viral ($p=0,44$) e contagem de células T-CD4+ ($p=0,54$) pré-tratamento também foram similares entre os grupos.

Para avaliar se a classe do terceiro antiretroviral utilizado tinha influência na resposta ao tratamento, nossa população de estudo foi estratificada em dois grupos: uso de IP (31,6% dos pacientes do grupo caso e 45,5% do controle) e o INNTR, mas a classe do terceiro antirretroviral não apresentou associação com a ocorrência de falha virológica ($p=0,17$). Os dois INTRs mais utilizados nos primeiros esquemas terapêuticos (AZT e TDF) não estiveram associados à falha virológica na nossa população ($p = 1$). Portanto, as análises das variáveis clínicas e epidemiológicas mostraram que os grupos caso e controle possuíam perfis clínicos semelhantes, não apresentando diferenças estatisticamente significantes entre os mesmos em nenhuma das variáveis analisadas. Todos os esquemas utilizados pela população de estudo estão discriminados no Anexo 4.

Tabela 7 - Testes de associação (exato de Fisher e Wilcoxon) de características demográficas, epidemiológicas e clínicas com a falha virológica.

Variáveis		Falha n = 38 (%)	Sucesso n=99 (%)	p
Sexo* (n=137/137)	Masculino	21 (55,3)	47 (47,5)	0,45
	Feminino	17 (44,7)	52 (52,5)	
Etnia (n= 137/137)	Negra	8 (21)	28 (28,3)	0,48
	Parda	18 (47,4)	49 (49,5)	
	Branca	12 (31,6)	22 (22,2)	
Peso (Kg) (IQR) (n=125/137)		64,5	62	0,72
Idade no início da terapia (anos) (n=125/137)		33 (28-36,5)	30 (26-34)	0,13
CV pré-tratamento ^{1*} (n=91/137)	Indetectável (<50)	0 (0)	6 (6,1)	0,44
	Baixa (10.000-50)	6 (15,8)	21 (21,2)	
	Média (10.000-100.000)	11 (29)	23 (23,2)	
	Alta (>100.000)	7 (18,4)	17 (17,2)	
Contagem de células T-CD4 pré-tratamento^{2*} (n=100/137)	< 500 (cels/ µL)	24 (63,2)	60 (60,6)	0,54
	≥ 500 (cels/ µL)	3 (8)	13 (13,1)	
Tempo Entre Diagnóstico e HAART* (meses) (n=108/137)		5 (1-18,5)	4 (1-14,2)	0,95
Uso de IP* (n=137/137)	Sim	12 (31,6)	45 (45,5)	0,17
	Não (uso de INNTR)	26 (68,4)	54 (54,5)	
Uso de AZT* (n=136/137)	Sim	32 (84,2)	82 (82,8)	1
	Não (uso de TDF)	6 (15,8)	16 (16,2)	

Notas:

*Variáveis selecionadas para inclusão no modelo de regressão logística.

¹Carga Viral em número de cópias do RNA viral por ml de sangue;

²Número de linfócitos T CD4⁺ por mm³ de sangue;

TARV- Terapia antirretroviral;

IP- Inibidor de protease;

AZT – Zidovudina

4.2 ANÁLISE DAS VARIÁVEIS GENÉTICAS

As frequências alélicas observadas dos genes candidatos *ABCB1*, *ABCG2*, *ABCC1*, *CYP1A2*, *CYP3A4*, *CYP2A6*, *CYP2B6* estiveram em conformidade com o equilíbrio de Hardy-Weinberg (Anexo 5).

O alelo A do polimorfismo rs1128503 do gene *ABCB1* apresentou frequência de 17,1% no grupo caso e 34,3% no controle (OR=0,4; IC de 95%= 0,18-0,8;

$p=0,005$). De acordo com o modelo codominante, os heterozigotos (AG) estiveram mais presentes no grupo controle (44,4% vs 29% no grupo caso, $p=0,047$), enquanto os homozigotos (AA) se apresentaram em frequência similar entre os grupos (2,6% no grupo caso e 12,1% no grupo controle; $p = 0,051$). O alelo parece contribuir com a redução da susceptibilidade à falha virológica, ou seja, os pacientes que o possuíam apresentaram maior probabilidade de sucesso virológico.

O alelo G do polimorfismo rs2235048, também pertencente ao gene *ABCB1*, apresentou frequência de 22% entre os casos e 36% entre os controles, uma diferença estatisticamente significativa (OR= 0,5; IC de 95%= 0,25-0,96; $p=0,03$). Diante dos resultados, o alelo parece conferir proteção contra a falha virológica.

De acordo com as análises univariadas realizadas, os demais polimorfismos estudados não apresentaram alelos associados à falha virológica da terapia antirretroviral. As frequências alélicas e genotípicas para todos os loci, bem como as medidas de associação (OR e seus respectivos IC de 95%) e seus p-valores correspondentes estão sumarizados na tabela (Tabela 8).

Tabela 8 - Frequências genotípicas e alélicas dos polimorfismos, testes de associação (teste exato de Fisher) com a ocorrência de falha virológica.

Genes	SNPs	Alelos Variantes e Genótipos	Frequências		Associação Genética (Teste exato de Fisher)	
			Falha n= 38 (%)	Sucesso n= 99 (%)	OR [95% IC]	p-valor
ABCB1	rs1128503* (137/137)	A	13/76 (17,1)	68/198 (34,3)	0,4 [0,18-0,8]	0,005
		GG	26 (68,4)	43 (43,4)	Referência	-
		AG	11(29)	44 (44,4)	0,42 [0,16-1]	0,047
		AA	1(2,6)	12 (12,1)	0,14 [0,003-1,05]	0,051
ABCB1	rs2235048* (137/137)	G	17/76 (22,4)	72/198 (36,4)	0,5 [0,25-0,96]	0,03
		AA	22 (58,0)	40 (40,4)	Referência	-
		AG	15 (39,4)	46 (46,5)	0,6[0,25-1,38]	0,24
		GG	1 (2,6)	13 (13,1)	0,14 [0,003-1,07]	0,05
ABCG2	rs2231142* (137/137)	A	11/76 (14,5)	16/198 (8,1)	1,91 [0,76-4,67]	0,12
		CC	27 (71)	83 (84)	Referência	-
		AC	11 (29)	16 (16)	2,1[0,78-5,52]	0,1
		AA	0 (0)	0 (0)	0	1
ABCC1	rs129081 (136/137)	G	33/76 (43,4)	80/196 (40,4)	1,11 [0,62-1,9]	0,78
		CC	11(29)	33 (33,7)	Referência	-
		CG	21(55,3)	50 (51)	1,26 [0,5-3,3]	0,67
		GG	6 (15,7)	15 (15,3)	1,2 [0,3-4,4]	0,77
CYP1A2	rs762551* (135/137)	C	25/74 (33,7)	52/196 (26)	1,41[0,75-2,6]	0,29
		AA	15(40,5)	55 (56,1)	Referência	-
		AC	19 (51,4)	34 (34,7)	2,04 [0,85-4,9]	0,1
		CC	3 (8,1)	9 (9,2)	1,21 [0,2-5,75]	0,72
CYP3A4	rs4646437 (137/137)	A	20/76 (26,3)	63/198 (31,8)	0,76 [0,4-1,43]	0,46
		GG	19 (50)	48 (48,5)	Referência	-
		AG	18 (47,4)	39 (39,4)	1,16[0,5-2,7]	0,7
		AA	1 (2,6)	12 (12,1)	0,21[0,004-1,64]	0,17
CYP2A6	rs8192726 (137/137)	A	5/76 (6,5)	10/198 (5,0)	1,32[0,34-4,42]	0,57
		CC	33 (86,8)	89 (90)	Referência	-
		AC	5 (13,2)	10 (10)	1,34[0,33-4,72]	0,76
		AA	0 (0)	0 (0)	0	1
CYP2B6	rs1042389* (132/137)	G	19/74 (25,6)	37/190 (19,5)	1,43 [0,71-2,8]	0,31
		AA	21 (56,8)	63 (66,3)	Referência	-
		AG	13 (35,1)	27 (28,4)	1,44[0,57-3,54]	0,4
		GG	3 (8,1)	5 (5,3)	1,8[0,25-10,1]	0,43
CYP2B6	rs707265 (136/137)	A	19/76 (25,0)	56/196 (28,6)	0,83 [0,43-1,6]	0,65
		GG	20 (52,6)	50 (51,0)	Referência	-
		GA	17 (44,8)	40 (40,8)	1,06[0,46-2,46]	1
		AA	1 (2,6)	8 (8,2)	0,32[0,006-2,63]	0,43

Notas:

*Polimorfismos selecionados para inclusão na análise de regressão logística.

OR - Razão de chances

IC de 95% - intervalo de confiança de 95%

4.3 REGRESSÃO LOGÍSTICA

A regressão logística multivariada foi empregada para identificar preditores de falha virológica na terapia anti-HIV. Levando em consideração a importância fisiológica e possível influência no desfecho terapêutico, foram incluídas no modelo de regressão logística as seguintes variáveis: sexo, tempo entre diagnóstico e HAART, uso de AZT, uso de IP, contagem de células T-CD4⁺ e carga viral pré-tratamento, apesar de não terem sido observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos nos testes univariados. Foram incluídos também os polimorfismos rs1128503 e rs2235048 (*ABCB1*), rs2231142 (*ABCG2*), rs762551 (*CYP1A2*) e rs1042389 (*CYP2B6*).

Os resultados da regressão logística mantiveram a associação significativa do polimorfismo rs1128503 (*ABCB1*) com a falha virológica. De acordo com o modelo, a presença dos genótipos A/G ou G/G rs1128503 (*ABCB1*) estaria associada a uma menor chance de ocorrer falha terapêutica, ou seja, o alelo G parece atuar como um fator de proteção contra a falha virológica (OR=0,029; IC de 95%=0,002-0,421; $p=0,009$). Contudo, a associação do alelo G do polimorfismo rs2235048 (*ABCB1*), observada através das análises univariadas, foi perdida quando essa variável foi incluída na regressão (OR=0,674; IC de 95%=0,01-4,525; $p=0,684$).

Os pacientes do sexo masculino apresentaram uma chance 25,6 vezes maior de falha virológica quando comparados aos pacientes do sexo oposto (OR=25,59; IC de 95%=2,62-245; $p=0,005$). Segundo nosso modelo de regressão, a carga viral pré-TARV influenciou no desfecho terapêutico, dessa forma, os pacientes com carga viral acima de 10.000 cópias/ml apresentaram um risco mais de 8 vezes maior de falha virológica (OR=8,337; IC de 95%= 1,161-59,883; $p=0,003$).

A validação interna do modelo, que mede quão bem o modelo explica os dados, indicou que o teste possuiu boa aderência ($z=0,77$ e $p=0,44$). A tabela (Tabela 9) a seguir sumariza as variáveis incluídas no modelo, bem como os resultados das medidas estatísticas relacionadas.

Tabela 9 - Coeficientes estimados, razão de chances (*odds ratio*) relacionadas, intervalos de 95% de confiança e p-valores do modelo com melhor aderência para explicar a ocorrência de falha virológica da terapia antirretroviral (n = 137).

Variáveis	Estimativa	OR [IC de 95%]	p-valor
rs1128503 (ABCB1)	-3,532	0,029 [0,002-0,421]	0,009
rs2235048 (ABCB1)	-0,394	0,674 [0,100-4,525]	0,684
rs2231142 (ABCG2)	1,831	6,241 [0,562-69,331]	0,136
rs762551 (CYP1A2)	0,913	2,492 [0,576-10,777]	0,222
rs1042389 (CYP1B6)	1,409	4,094 [0,655-25,584]	0,132
Sexo Masculino	3,242	25,590 [2,62-245]	0,005
Tempo entre diagnóstico e HAART	0,004	1,004 [0,978-1,031]	0,733
Uso de AZT	1,521	4,579 [0,472-44,443]	0,189
Uso de IP	1,571	1,768 [0,287-10,866]	0,538
Contagem T-CD4+ pré-HAART	-0,299	0,741 [0,140-3,903]	0,724
Carga viral pré-TARV	2,121	8,337 [1,161-59,883]	0,003
Intercept	-		0,006

Notas:

HAART– highly active antiretroviral therapy ou terapia antirretroviral de alta atividade

AZT – zidovudina

IP – inibidor de protease

IC - intervalo de confiança

OR - odds ratio

5 DISCUSSÃO

Foram analisados nove polimorfismos em sete genes candidatos (*ABCB1*, *ABCC1*, *ABCG2*, *CYP1A2*, *CYP3A4*, *CYP2A6*, *CYP2B6*), selecionados devido a sua importância no transporte (efluxo) e metabolismo dos principais antirretrovirais utilizados no primeiro esquema da terapia anti-HIV, além de variáveis clínicas e epidemiológicas, que poderiam influenciar na resposta terapêutica.

Com relação às variáveis clínicas como idade e massa corporal, não houve indicação de que estas exerçam influência no desfecho terapêutico (falha ou sucesso virológico). No que se refere à idade, um estudo de Yassin e Gebretekle (2017) realizado em uma coorte de 269 crianças, mostrou que a idade entre seis e nove anos foi associada à falha da terapia e que nesta faixa etária encontrou-se um efeito protetor. Segundo os autores, tais resultados são fruto de uma menor aderência por parte das crianças mais jovens, porém não explicou o fato de as crianças mais velhas (10-15 anos) não terem apresentado tal efeito protetor, pois o argumento dado era que crianças mais jovens não tinham maturidade suficiente para tomar conta da sua terapia sozinhas.

Os efeitos da etnia na resposta a esquemas contendo INTRs (classe antirretroviral utilizada no primeiro esquema invariavelmente) tem sido um ponto de controvérsia para vários pesquisadores, porém, grande parte dos estudos (Paintsil *et al.*, 2011), mostraram que a etnia tem pouca influência no metabolismo de antirretrovirais. É relevante, entretanto, destacar que o presente estudo levou em consideração apenas a etnia autodeclarada, o que pode gerar um viés na avaliação dessa variável, visto que: 1) a autoavaliação/autodeclaração é bastante subjetiva; 2) nosso país é extremamente miscigenado, sendo a nossa população formada geneticamente por, pelo menos, mais outras três populações (européia, afroamericana, indígena); 3) nem sempre o fenótipo condiz com a etnia genética.

Em nossas análises univariadas o sexo não foi associado ao risco de falha, todavia, o modelo de regressão logística escolhido indicou que o sexo masculino apresentou risco de falha virológica cerca de vinte e cinco vezes maior que o sexo oposto. Nossos achados diferem dos de outros estudos como o de Caseiro *et al.*, (2008) e Ofotokun (2005) cujos autores relataram que as mulheres estão mais sujeitas à falha terapêutica. Já Floridia *et al.*, (2008) relataram que as diferenças fisiológicas relativas ao sexo não foram significativas no resultado da terapia. Apesar

de vários estudos de farmacologia humana descreverem diferenças na farmacocinética dos medicamentos, na resposta à drogas e na toxicidade de drogas entre homens e mulheres, as diferenças sexuais são difíceis de atribuir a mecanismos distintos simples, devido ao número de fatores potencialmente envolvidos e à complexidade de suas interrelações.

O número de células T-CD4 pré-terapia, assim como no estudo de Caseiro et al (2008), não apresentou influência sobre a eficiência na supressão da replicação do HIV-1, no presente estudo. No entanto, em um trabalho realizado com crianças por Yassin e Gebretekle (2017), aquelas que apresentaram o número de células T-CD4 < 50 células/mm³ foram 4,28 vezes mais propensas a desenvolver falha do tratamento quando comparadas às que tiveram contagem pré-terapia de CD4 ≥ 50 células/mm³. Outros autores também relataram relação entre o número de células T-CD4 e falha virológica, Hofer *et al.*, (2004) observaram que os pacientes cuja resposta à terapia era positiva, possuíam contagens de células CD4+ mais altas no início da terapia. Da mesma forma, Robbins *et al.*, (2007) observaram que baixos níveis de CD4+ no início da terapia foram associados a maior risco de falha terapêutica ao longo dos dois anos seguintes.

Na nossa coorte, os pacientes que iniciaram a terapia com CV > 10.000 cópias/ml apresentaram risco de falha virológica cerca de oito vezes maior do que aqueles que iniciaram a terapia com a viremia abaixo desse limiar. Num estudo de coorte retrospectivo realizado por Caseiro et al. (2008), não foi observada correlação entre a CV pré-tratamento com a falha. Contudo, o fato de dados relativos a adesão ao tratamento não terem sido considerados introduz um viés importante no trabalho de Caseiro *et al.*, visto que a adesão é um dos principais fatores envolvidos na falha virológica. Hofer et al., 2004 observaram que os pacientes cuja CV pré-tratamento era baixa possuíam menos risco de falha na terapia, da mesma forma, um grupo italiano liderado por Santoro et al. (2013) realizou um estudo com cerca de 1500 pacientes e avaliou se a CV pré-tratamento influenciaria no alcance e manutenção do sucesso virológico de PVHA que iniciaram o primeiro esquema da terapia anti-HIV. A viremia pre-HAART elevada continua a ser um fator independente associado a falha virológica. A população de estudo foi estratificada em relação a CV inicial em 5 categorias (<30.000; 30.001-100.000; 100.001-300.000; 300.001 – 500.000; >500.000 cópias/ml). Eles observaram que quanto maior a CV pré-tratamento, mais tempo o paciente levava para atingir a CV

indetectável. Poucos estudos avaliaram o efeito da viremia pré-terapia na falha virológica, (falar um pouco sobre aquele trabalho que viu exatamente isso - Robbins *et al.*, 2010).

Visto que a terapia anti-HIV é formada atualmente por três antirretrovirais, dos quais dois são INTR e o terceiro pode variar a classe, geralmente sendo um INNTR ou IP (a recomendação mais atual do Ministério da Saúde é do uso de um INI, o dolutegravir, como terceiro antirretroviral, preferencialmente), nossa população foi estratificada de acordo com a classe do terceiro antirretroviral (INNTR ou IP) e de acordo com o segundo INTR (levando em conta que a lamivudina ou 3TC, está sempre presente nos esquemas terapêuticos). As diferentes composições dos esquemas antirretrovirais utilizados pela população de estudo também não mostraram associação com a falha terapêutica. Estudos comparando os diferentes regimes antirretrovirais demonstraram que o uso de IP ou INNTR em combinação com dois INTRs apresentam maior durabilidade da supressão viral e, conseqüentemente, menor risco de falha do tratamento (Ofotokun *et al.*, 2005; Robbins *et al.*, 2007), no presente estudo o uso de IP ou INNTR apresentou a mesma eficácia em ambos os grupos (falha e sucesso).

As diretrizes atuais do tratamento anti-HIV recomendam o início da terapia logo após o diagnóstico (Ministério da Saúde, 2014), entretando, quase metade da nossa população (163+ 44%) levou mais de um ano para iniciar a TARV. Como na ausência de tratamento antirretroviral, o sistema imunológico tende a ficar mais debilitado (devido à depleção de CD4) e a carga viral tende a aumentar, o delay entre diagnóstico e terapia poderia influenciar no desfecho terapêutico. Porém, o tempo entre diagnóstico e início da TARV não se mostrou relevante na falha virológica.

De acordo com a literatura, o gene *CYP1A2* desempenha algum papel no metabolismo de Nevirapina e Efavirenz (fármaco utilizado no primeiro esquema da terapia anti-HIV no Brasil, invariavelmente, até o início de 2017). Seu principal polimorfismo, o SNP intrônico rs762551, tem sido associado ao aumento da indutibilidade ao *CYP1A2*, o que potencialmente leva ao aumento dos níveis de enzimas deste gene e ao aumento da depuração dos fármacos que são substratos de *CYP1A2*, como o EFV (Mhandire *et al.*, 2015). Apesar de não termos avaliados os níveis plasmáticos dos antirretrovirais de primeira linha em nosso estudo, sua ação no organismo poderia ser avaliada indiretamente através da ocorrência ou não

de falha virológica na terapia, porém, não foi observada relação entre o rs762551 e a falha.

Pela primeira vez foi avaliada a influência do SNP rs129081 (*ABCC1*) na falha virológica da terapia anti-HIV, contudo não foi observada relação entre o SNP e a falha em nossa coorte.

O genótipo AA do SNP não-sinônimo rs2231142 (*ABCG2*) já foi correlacionado com uma maior concentração plasmática de dolutgravir (fármaco utilizado no primeiro esquema da terapia anti-HIV no lugar do EFV) quando comparado com os genótipos CC e CA (Tsuchiya et al., 2017), segundo os autores do estudo, o nível máximo especulado da concentração plasmática de dolutegravir foi significativamente maior nos titulares de variantes genéticas *ABCG2*, provavelmente, pelo menos em parte, devido aos baixos níveis de expressão de transportadores de efluxo nos intestinos associados a essas variantes genéticas. Esse mesmo SNP também já foi correlacionado com a concentração plasmática de tenofovir em mulheres (Baxi et al., 2017).

No presente estudo os SNPs intrônicos rs4646437 (*CYP3A4*) e rs8192726 (*CYP2A6*) não estiveram relacionados com a falha virológica, tais polimorfismos poderiam influenciar no processo de splicing contribuindo para a produção de polipeptídeos alternativos que, por sua vez, alterariam a quantidade das proteínas metabolizadoras de antirretrovirais como o EFV, como tem sido relatado na literatura (Kwara et al., 2009).

Tem sido relatado que polimorfismos em *CYP2B6* podem afetar as concentrações plasmáticas de NVP e EFV (Haas et al., 2009) e estariam relacionados ao perfil metabólico de mulheres que iniciaram a terapia anti-HIV contendo INNTRs (Frasco et al., 2012), tais achados poderiam influenciar no desfecho terapêutico, entretanto os SNPs rs1042389 e rs707265 (*CYP2B6*) avaliados não influenciaram na falha virológica em nossas análises.

Tendo em vista que o gene *ABCB1* codifica para a glicoproteína-P, uma bomba de efluxo de fármaco dependente de ATP, que é responsável pelo transporte de fármacos através da membrana extra e intracelular, a variabilidade na expressão desse gene pode contribuir para uma concentração plasmática variável de EFV que influenciaria nos níveis de supressão do HIV-1 e consequentemente no desfecho terapêutico. O presente estudo reporta a associação do SNP sinônimo rs1128503 do gene *ABCB1* com a falha virológica do primeiro esquema da terapia anti-HIV. Os

resultados apontam que a presença dos genótipos AG ou GG estaria associada a uma menor chance de ocorrer a falha terapêutica, ou seja, o alelo G parece atuar como um fator de proteção contra a falha virológica. Apesar do SNP rs1128503 não resultar em uma alteração de aminoácidos, sua presença pode afetar a expressão do *ABCB1* através do uso de códon (Gu et al., 2004).

Diante do exposto, é necessária a realização de mais estudos, principalmente para validar os resultados obtidos, preferencialmente com outros grupos de pacientes. Além disso, novos genes e suas variantes que atuem no resultado final da terapia poderiam ser incluídos no modelo de regressão logística, o que refinaria seu poder preditivo. O presente estudo apresenta algumas limitações, uma delas é o tamanho amostral que, para um estudo de associação genética, pode ser considerado pequeno. Foi realizado um teste estatístico (Power) para cada SNP, cujo objetivo foi avaliar se o tamanho da nossa coorte era ideal para realizar o estudo de associação, levando em consideração o MAF dos SNPs. De acordo com esse teste, nem todos os SNPs do trabalho estariam bem representados em nossa coorte, portanto, devemos ter um maior cuidado ao extrapolar os resultados do estudo, mesmo que para uma subpopulação. Outra limitação está relacionada com informações ausentes sobre o status de resistência primária do HIV-1 nos pacientes recrutados.

6 CONCLUSÕES

Diante das análises realizadas, os fatores clínicos e epidemiológicos por si só não tiveram influência sobre a ocorrência de falha virológica no tratamento antirretroviral da população de estudo. Porém quando analisados juntamente com outras variáveis, o sexo e a carga viral pré-tratamento pareceram influenciar no desfecho terapêutico. Os polimorfismos rs1128503 e rs2235048 do gene *ABCB1* estiveram relacionados à resposta a HAART, de acordo com nossas análises, os pacientes que tinham tais polimorfismos em seus genomas apresentaram menor susceptibilidade à falha virológica, ou seja, sua presença parece representar um fator de proteção. Não houve evidência de que polimorfismos nos genes *ABCG2*, *CYP1A2*, *CYP3A4*, *CYP2A6*, *CYP2B6* influenciam na resposta à HAART.

De acordo com o modelo de regressão logística elaborado, pacientes possuindo o polimorfismo rs1128503 (*ABCB1*) apresentaram menor susceptibilidade à falha virológica. Os pacientes do sexo masculino apresentaram risco de falha virológica cerca de 25 vezes mais elevado quando comparados aos pacientes do sexo oposto. Nosso modelo de regressão também indicou que os pacientes que iniciaram a HAART com carga viral acima de 10.000 cópias/ml possuíram oito vezes mais chances de apresentar falha virológica.

REFERÊNCIAS

- ACETI, A.; GIANSEIRA, L.; LAMBIASE, L.; ALFREDO, P.; TETO, E. Pharmacogenetics as a tool to tailor antiretroviral therapy: A review. **World J Virol** 3:198-208, 2015.
- ALDOUS, J. L.; HAUBRICH, R. H. Defining treatment failure in resource-rich settings. **Current opinion in HIV and AIDS** 4:459-466, 2009.
- BARRÉ-SINOUSSE, F.; CHERMANN, J. C.; REY, F.; NUGEYRE, M. T.; CHAMARET, S.; GRUEST, J.; DAUGET, C. R.; AXLER-BIN, C. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science** 220: 868-870, 1983.
- BAXI, S. M.; GREENBLATT, R. M.; BACCHETTI, P.; COHEN, M.; DEHOVITZ, J. A.; ANASTOS, K.; GANGE, S. J.; YOUNG, M. A.; AOUIZERAT, B. E. Evaluating the association of single-nucleotide polymorphisms with tenofovir exposure in a diverse prospective cohort of women living with HIV. **Pharmacogenomics J**, 2017.
- BORDOR, M.; KELLY, E. S. e HO, R. J. Characterization of human *MDR1* gene. **The AAPS Journal** 7(1), 2005.
- BOUCHER, C. A. B.; CAMMACK, N.; SCHIPPER, P.; SCHUURMAN, R.; ROUSE, P.; WAINBERG, M. A. e CAMERON, J. M. High-level resistance to (-) enantiomeric 2'-Deoxy- 3'-thiacytidine in vitro is due to one amino acid substitution in the catalytic site of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy** 37: 2231-2234, 1993.
- CALVEY, T. N. Drug Absorption, Distribution and Elimination, in Principles and Practice of Pharmacology for Anaesthetists, Fifth Edition, **Blackwell Publishing Ltd.**, Oxford, 2007. UK. doi: 10.1002/9781405194853.ch1.
- CASEIRO, M. M.; GOLEGÃ, A. A. C.; ETZEL, A.; DIAZ, R. S. Characterization of virologic failure after an initially successful 48-week course of antiretroviral therapy in HIV/AIDS outpatients treated in Santos, Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases** 3:162-166, 2008.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL. Pneumocystis Pneumonia, **Morbidity and Mortality Weekly Report** 31:1-3, Los Angeles, 1981a.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL. Pneumocystis pneumonia, **Morbidity and Mortality Weekly Report** 30:250, Los Angeles, 1981b.
- CENTER FOR DISEASE CONTROL. A Cluster of Kaposi's Sarcoma and *Pneumocystis carinii* Pneumonia among Homosexual Male Residents of Los Angeles and range Counties, California, **Morbidity and Mortality Weekly Report** 31:305-307, Los Angeles, 1982a.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. Opportunistic Infections and Kaposi's Sarcoma among Haitians in the United States, **Morbidity and Mortality Weekly Report** 31:353-354,360-361, Los Angeles, 1982b.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. Epidemiologic Notes and Reports *Pneumocystis carinii* Pneumonia among Persons with Hemophilia A, **Morbidity and Mortality Weekly Report** 31:365-367, Los Angeles, 1982c.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. Current Trends Update on Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) -United States, **Morbidity and Mortality Weekly Report** 31:507-508,513-514, Los Angeles, 1982d.

CENTER FOR DISEASE CONTROL Current Trends Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS): Precautions for Clinical and Laboratory Staffs. **Morbidity and Mortality Weekly Report** 31:577-580, 1982a.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. Epidemiologic Notes and Reports Immunodeficiency among Female Sexual Partners of Males with Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS), **Morbidity and Mortality Weekly Report** 31:697-698, New York, 1983a.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. Epidemiologic Notes and Reports Possible Transfusion-Associated Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS), **Morbidity and Mortality Weekly Report** 31:652-654, Los Angeles, 1982e.

CENTER FOR DISEASE CONTROL. Current Trends Update: Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS) - United States, **Morbidity and Mortality Weekly Report** 32:465-467, 1983b.

CHEOK. M. H.; POTTIER, N.; KAGER, L.; EVANS, W. E. Pharmacogenetics in acute lymphoblastic leukemia. **Semin Hematol** 46:39-51, 2009.

COLIC´, A.; ALESSANDRINI, M.; PEPPER, M. Pharmacogenetics of CYP2B6, CYP2A6 and UGT2B7 in HIV treatment in African populations: focus on efavirenz and nevirapine. **Drug Metab Rev**, Early Online: 1–13, 2014.

CRESSEY, T. R.; LALLEMANT, M. Pharmacogenetics of antiretroviral drugs for the treatment of HIV-infected patients: an update. **Infect Genet Evol** 7:333-342, 2007.
DE COCK, K. M.; JAFFE, H. W.; CURRAN, J. W. Reflections on 30 years of AIDS. **Emerg Infect Dis** 17:1044-1048, 2011.

DEAN, M.; HAMON, Y.; CHIMINI. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. **Journal of Lipid Research** 42:1007–1017, 2001.

DIAZ, R. S. Guia para manuseio de resistência antirretroviral. **Permanyer Brasil Produções**, LTDA 1:1-231, 2011.

EICHELBAUM, M.; INGELMAN-SUNDBERG, M. E.; EVANS, W. E. Pharmacogenomics and individualized drug therapy. **Annu. Rev. Med.** 57:119–137, 2006.

ERON, J. J.; BENOIT, S. L.; JEMSEK, J.; MACARTHUR, R. D.; SANTANA, J.; QUINN, J. B.; KURITZKES, D. R.; FALLON, M. A.; RUBIN, M. Treatment with Lamivudine, Zidovudine, or both in HIV-positive patients with 200 to 500 CD4+ cells per cubic millimeter. **The New England Journal of Medicine** 333: 1662-1669, 1995

FDA US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Antiretroviral drugs used in the treatment of HIV infection**. Disponível em <https://www.fda.gov/forpatients/illness/hivaids/treatment/ucm118915.htm> Acesso em 03 Julho de 2017.

FAIRMAN, K.; MATHERAL, B. Evaluating medication adherence: which measure is right for your program? **Strategies** 2:4, 2000.

FANALES-BELASIO, E.; RAIMONDO, M.; SULIGOI, B.; BUTTO, S. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. **Ann Ist Super Sanita** 46:5-14, 2010.

FELLAY, J.; MARZOLINI, C.; MEADEN, E. R.; BACK, D. J.; BUCLIN, T.; CHAVE, J. P.; DECOSTERD, L. A.; FURRER, H.; OPRAVIL, M.; PANTALEO, G. *et al.* 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, 2002.

FLORIDIA, M.; GIULIANO, M.; PALMISANO, L.; VELLA, S. Gender differences in the treatment of HIV infection. *Pharmacological research : the official journal of the Italian Pharmacological Society* 58:173-182, 2008.

GALLO, R. C.; SARIN, P. S.; GELMANN, E. P.; ROBERT-GUROFF, M.; RICHARDSON, E.; KALYANARAMAN, V. S.; MANN, D.; SIDHU, G. D.; STAHL, R. E.; ZOLLA-PAZNER, S. *et al.* Isolation of human T-cell leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science** 220:865-867, 1983.

GANDHI, M.; GREENBLATT, R. M.; BACCHETTI, P.; JIN, C.; HUANG, Y.; ANASTOS, K.; COHEN, M.; DEHOVITZ, J. A.; SHARP, G. B.; GANGE, S. J. *et al.* A Single-Nucleotide polymorphism in CYP2B6 Leads to >3-Fold Increases in Efavirenz Concentrations in Plasma and Hair Among HIV-Infected Women. **The Journal of Infectious Diseases** 206:1453–1461, 2012.

GU, W.; ZHOU, T.; MA, J.; SUN, X.; LU, Z. The relationship between synonymous codon usage and protein structure in *Escherichia coli* and *Homo sapiens*. **Biosystems** 73(2):89-97, 2004.

HAAS, D. W.; GEBRETSADIK, T.; MAYO, G.; MENON, U.; ACOSTA, E. P.; SHINTANI, A.; FLOYD, M.; STEIN, C. M.; WILKINSON, G. R. Relationships between CYP2B6 Polymorphisms and Pharmacokinetics Following a Single Dose of Nevirapine or Efavirenz in African Americans. **J Infect Dis.** 199: 872–880, 2009.

HOFER, C. B.; SCHECHTER, M.; HARRISON, L. H. Effectiveness of Antiretroviral Therapy Among Patients Who Attend Public HIV Clinics in Rio de Janeiro, Brazil. **J Acquir Immune Defic Syndr** 36:967-971, 2004.

HOLZINGER, E. R.; GRADY, B.; RITCHIE, M. D.; RIBAUDO, H. J.; ACOSTA, E. P.; MORSE, G. D.; GULICK, R. M.; ROBBINS, G. K.; CLIFFORD, D. B.; DAAR, E. S. *et al.* Genome-wide association study of plasma efavirenz pharmacokinetics in AIDS Clinical Trials Group protocols implicates several CYP2B6 variants. **Pharmacogenet Genomics**. 22: 858–867, 2012.

INABA, T.; FISCHER, N. E.; RIDDICK, D. S.; STEWART, D. J.; HIDAKA, T. HIV protease inhibitors, saquinavir, indinavir and ritonavir: inhibition of CYP3A4-mediated metabolism of testosterone and benzoxazinorifamycin, KRM-1648, in human liver microsomes. **Toxicology Letters** 93:215–219, 1997.

INGELMAN-SUNDBERG, M.; SIM, S. C.; GOMEZ, A.; RODRIGUEZ-ANTONA, C. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoepigenetic and clinical aspects. **Pharmacol Ther** 116:496-526, 2007.

JANI, M.; BARTON, A.; HO, P. Pharmacogenetics of treatment response in psoriatic arthritis. **Curr Rheumatol Rep** (2015) 17: 44, 2015.

JAYAKANTHAN, M.; CHANDRASEKAR, S.; MUTHUKUMARAN, J.; MATHUR, P. P. Analysis of CYP3A4-HIV-1 protease drugs interactions by computational methods for Highly Active Antiretroviral Therapy in HIV/AIDS. **Journal of Molecular Graphics and Modelling** 28: 455-463, 2010.

KILMARX, P. H. Global epidemiology of HIV. **Current opinion in HIV and AIDS** 4:240-246, 2009.

KIRCHHOFF, F.; EASTERBROOK, P. J.; DOUGLAS, N.; TROOP, M.; GREENOUGH, T. C.; WEBER, J.; CARL, S.; SULLIVAN, J. L.; DANIELS, R. S. Sequence Variations in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Nef are Associated with Different Stages of Disease. **Journal of Virology** 73: 5497-5508, 1999.

LARDER, B. A.; KEMP, S. D.; HARRIGAN, P. R. Potential mechanism for sustained antiretroviral efficacy of AZT-3TC combination therapy. **Science** 269: 696-699, 1995.

LARDER, B. A.; DARBY, G.; RICHMAN, D. D. HIV with Reduced Sensitivity to Zidovudine (AZT) Isolated During Prolonged Therapy. **Science** 243: 1731-1734, 1989.

MANCINELLI, L.; CRONIN, M.; SADEE, W. Pharmacogenomics: the promise of personalized medicine. **AAPS PharmSci** 2:E4, 2000.

MARTINS, A. T.; KERR, L. R. F. S.; KENDALL, C.; MOTA, R. M. S. Cenário epidemiológico da infecção pelo HIV e AIDS no mundo. **Rev Fisioter S Fun** 3:4-7, 2014.

METZGER, I. F.; SOUZA-COSTA, D. C.; TANUS-SANTOS, J. E. Farmacogenética: princípios, aplicações e perspectivas. **Medicina (Ribeirão Preto)** 39: 515-521, 2006.

MEHLOTRA, R. K.; CHERUVU, V. K.; ZIKURSH, M. J. B.; BENISH, R. L.; LEDERMAN, M. M.; SALATA, R. A.; GRIPSHOVER, B.; MCCOMSEY, G. A.; LISGARIS, M. V.; FULTON, S. *et al.* Chemokine (C-C Motif) Receptor 5 22459 Genotype in Patients Receiving Highly Active Antiretroviral Therapy: Race-Specific Influence on Virologic Success. **The Journal of Infectious Diseases** 204:291–298, 2011.

MHANDIRE, D.; LACERDA, M.; CASTEL, S.; MHANDIRE, K.; ZHOU, D.; STUART, M.; SHAMU, T.; SMITH, P.; MUSINGWINI, T.; WIESNER, L.; STRAY-PEDERSEN, B.; DANDARA, C. Effects of *CYP2B6* and *CYP1A2* Genetic Variation on Nevirapine Plasma Concentration and Pharmacodynamics as Measured by CD4 Cell Count in Zimbabwean HIV-Infected Patients. **A Journal of Integrative Biology** 19:553-562, 2015.

MICHAUD, V.; BAR-MAGEN, T.; TURGEON, J.; FLOCKHART, D.; DESTA, Z.; WAINBERG, M. A. The dual role of pharmacogenetics in HIV treatment: mutations and polymorphisms regulating antiretroviral drug resistance and disposition. **Pharmacol Rev** 64:803–833, 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Boletim Epidemiológico HIV AIDS. **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, AIDS e Hepatite Virais**. Ano IV, n.1, 100p, 2015a.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. 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, n.1, 216, 2015b.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Boletim Epidemiológico HIV AIDS. **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, AIDS e Hepatite Virais**. Ano V, n.1 64p, 2016a.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Indicadores e dados básicos da AIDS nos municípios brasileiros**. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, AIDS e Hepatite Virais, 2016b. Disponível em: <http://indicadores.aids.gov.br/>. Acesso em: 15/06/2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Nota informativa Nº007/2017-DDAH/SVS/MS. **Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, AIDS e Hepatite Virais**, 2017.

MHANDIRE, D.; LACERDA, M.; CASTEL, S.; MHANDIRE, K.; ZHOU, D.; SWART, M.; SHAMU, T.; SMITH, P.; MUSINGWINI, T.; WIESNER, L. *et al.* Effects of *CYP2B6* and *CYP1A2* Genetic Variation on Nevirapine Plasma Concentration and Pharmacodynamics as Measured by CD4 Cell Count in Zimbabwean HIV-Infected Patients. **OMICS**. 19:553-562, 2015.

MUGAVERO, M. J.; LIN, H. Y.; ALLISON, J. J.; GIORDANO, T. P.; WILLIG, J. H.; RAPER, J. L.; WRAY, N. P.; COLE, S. R.; SCHUMACHER, J. E.; DAVIES, S. *et al.* Racial Disparities in HIV Virologic Failure: Do Missed Visits Matter? **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes** 50:100-108, 2009.

OFOTOKUN, I. Sex differences in the pharmacologic effects of antiretroviral drugs: potential roles of drug transporters and phase 1 and 2 metabolizing enzymes. **Topics in HIV Medicine** 13:79-83, 2005.

OGU, C. C.; MAXA, J. L. Drug interactions due to cytochrome P450. **Bumc Proceedings** 13:421-423, 2000.

PAINTSIL, E.; DUTSCHMAN, G. E.; HU, R.; GRILL, S. P.; WANG, C. J.; LAM, W.; LI, F. Y.; GHEBREMICHAEL, M.; NORTHRUP, V.; CHENG, Y. C. Determinants of Individual Variation in Intracellular Accumulation of Anti-HIV Nucleoside Analog Metabolites. **Antimicrob. Agents Chemother.** 55:895-903, 2011.

PAN, G.; GIRI, N.; ELMQUIST, W. F. Abcg2/Bcrp1 Mediates the Polarized Transport of Antiretroviral Nucleosides Abacavir and Zidovudine. **Drug Metabolism and disposition** 35: 1165-1173, 2007.

PAVLOS, R.; PHILLIPS, E.J. Individualization of antiretroviral therapy. **Pharmacogenomics and Personalized Medicine** 5 1-17, 2012.
PERERA, M. A.; THIRUMARAN, R. K.; COX, N. J.; HANAUER, S.; DAS, S.; BRIMER-CLINE, C.; LAMBA, V.; SCHUETZ, E. G.; RATAIN, M. J.; DI RIENZO, A. Prediction of CYP3A4 enzyme activity using haplotype tag SNPs in African Americans. **Pharmacogenomics** J. 9: 49-60, 2009.

PESSÔA, R. F.; NÁCUL, F. E.; NOEL, F. Farmacogenética e Farmacogenômica. Evidências de como a genética pode influenciar a eficácia de fármacos e a busca por novos alvos farmacológicos. **Infarma** 18: 41-48, 2006.

POUGET, J. G.; SHAMS, T. A.; TIWARI, A. K.; MULLER, D. J. Pharmacogenetics and outcome with antipsychotic drugs. **Dialogues in Clinical Neuroscience** 16:555-566, 2014.

RAMBAUT, A.; POSADA, D.; CRANDALL, K. A.; HOLMES, E. C.; The causes and consequences of HIV evolution. **Nature Reviews Genetics** 5:52-61, 2004.

RICHMAN, D. D.; FISCHL, M. A.; GRIECO, M. H.; GOTTLIEB, M. S.; VOLBERDING, P. A.; LASKIN, O. L.; LEEDOM, J. M.; GROOPMAN, J. E.; MILDVAN, D.; HIRSCH, M. S. *et al.*, The toxicity of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AINDS-related complex. **The New England Journal of Medicine** 17: 192-197, 1987.

ROBBINS, G. K.; DANIELS, B.; ZHENG, H.; CHUEH, H.; MEIGS, J. B.; FREEDBERG, K. A. Predictors of antiretroviral treatment failure in an urban HIV clinic. **J Acquir Immune Defic Syndr.** 44:30-37, 2007.

SARFO, F. S.; ZHANG, Y.; EGAN, D.; TETTEH, L. A.; PHILLIPS, R.; BEDU-ADDO, G.; SARFO, M. A.; KHOO, S.; OWEN, A.; CHADWICK, D. R. Pharmacogenetic associations with plasma efavirenz concentrations and clinical correlates in a retrospective cohort of Ghanaian HIV-infected patients. **J Antimicrob Chemother** 69: 491–499, 2013.

SARKADI, B.; ÖZVEGY-LACZKA, C.; NÉMET, K.; VÁRADI, A. ABCG2- a transporter for all seasons. **Febs Letters** 567:116-120, 2004.

SCHULZ, K. F.; GRIMES, D. A. Case-control studies: research in reverse. **Lancet** 359:431-434, 2002.

SHAH, R. R. Pharmacogenetics in drug regulation: promise, potential and pitfalls. **Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci** 360:1617-1638, 2005.

SLEASMAN, J. W.; GOODENOW, M. M. HIV-1 infection. **J Allergy Clin Immunol** 111:S582-592, 2003.

SOO, R. A.; YONG, W.; INNOCENTI, F. Systemic therapies for pancreatic cancer - The role of pharmacogenetics. **Curr Drug Targets**. 13: 811–828, 2012.

SULIGOI, B.; RAIMONDO, M.; FANALES-BELASIO, E.; BUTTÓS. The epidemic of HIV infection and AIDS, promotion of testing, and innovative strategies. **Ann Ist Super Sanita**. 46: 15-23, 2010.

SWART, M.; REN, Y.; SMITH, P.; DANDARA, C.; *ABCB1* 4036A>G and 1236C>T polymorphisms affect plasma efavirenz levels in South African HIV/AIDS patients. **Frontiers in Genetics**. 3:1-10, 2012.

TELENTI, A.; ZANGER, U. M. Pharmacogenetics of anti-HIV drugs. **Annu Rev Pharmacol Toxicol**. 48:227-256, 2008.

TANG, M. W.; SHAFER, R. W. HIV-1 Antiretroviral Resistance: Scientific Principles and Clinical Applications. **Drugs**. 72, 2012.

TSUCHIYA, K.; HAYASHIDA, T.; HAMADA, A.; KATO, S.; OKA, S.; GATANAGA, H. Low raltegravir concentration in cerebrospinal fluid in patients with ABCG2 genetic variants. **J Acquir Immune Defic Syndr**. 66:484-486, 2014.

TSUCHIYA, K.; HAYASHIDA, T.; HAMADA, A.; KATO, S.; OKA, S.; GATANAGA, H. High plasma concentrations of dolutegravir in patients with ABCG2 genetic variants. **Pharmacogenetics and genomics** (11):416-419, 2017.

UNAIDS. AIDS by the numbers. **UNAIDS**, 2015a.

UNAIDS. Progress report on the global. **UNAIDS**, 2015b.

UNAIDS. How AIDS Changed Every Thing, MDG 6: 15 years, 15 lessons of hope from the AIDS response. **UNAIDS**. n.1, 548p., 2015c.

UNAIDS. Get on the Fast-Track. The life-cycle approach to HIV. UNAIDS, 2016a.

UNAIDS. Global AIDS up date 2016. **UNAIDS**, 2016b.

U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. **Department of Health and Human Services**, 2016. Disponível em: <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>. Acesso em 3 Julho de 2017.

WEISS, R. A. HIV Receptors and Cellular Tropism. **Life**, 53: 201–205, 2002.

WATTS, J. M.; DANG, K. K.; GORELICK, R. J.; LEONARD, C. W.; BESS, J. R. J. W.; SWANSTROM, R.; BURCH, C. L.; WEEKS, K. M. Architecture and secondary structure of an entire HIV-1 RNA genome. **Nature** 460:711-716, 2009.

YASSIN, S.; GEBRETEKLE, G. B. Magnitude and predictors of antiretroviral treatment failure among HIV-infected children in Fichr and Kuyu hospitals, Oromia region, Ethiopia: a retrospective cohort study. **Pharma Res Per** 5 (1), 2017.

YEH, R. F.; GAVER, V. E.; PATTERSON, K. B.; REZK, N. L.; BAXTER-MEHEUX, F. B. S.; BLAKE, M. J.; ERON, J. J. J.; KLEIN, C. E.; RUBLEIN, J. C.; KASHUBA, A. D. M. Lopinavir/Ritonavir Induces the Hepatic Activity of Cytochrome P450 Enzymes CYP2C9, CYP2C19, and CYP1A2 But Inhibits the Hepatic and Intestinal Activity of CYP3A as Measured by a Phenotyping Drug Cocktail in Healthy Volunteers. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes** 42:52-60, 2006.

ZANGER, U. M.; SCHWAB, M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. **Pharmacology & Therapeutics** 138: 103-141, 2013.

ZHANG, Y.; OWEN, A.; EGAN, D.; SARFO, S. F. Impact of CYP2B6 and CYP2A6 polymorphisms on efavirenz plasma concentrations in Ghanaian HIV-infected patients. **Journal of the International AIDS Society** 13:183, 2010.

APÊNDICE A – ESQUEMAS TERAPÊUTICOS UTILIZADOS PELA POPULAÇÃO DO ESTUDO

Tabela 10 - Estratificações por esquema terapêutico recebido

Esquema Antirretroviral	Falha n=38 (%)	Sucesso n=99 (%)
AZT+3TC EFZ	17 (44,7)	38 (38,4)
AZT+3TC LPV/r	12 (31,6)	30 (30,3)
TDF+3TC EFZ	6 (15,8)	11 (11,1)
AZT+3TC ATV/r	0 (0)	4 (4)
AZT+3TC NVP	3 (7,9)	4 (4)
TDF+3TC ATV/r	0 (0)	4 (4)
ABC+3TC EFZ	0 (0)	1 (1)
AZT+3TC IDV/r	0 (0)	1 (1)
TDF+3TC LPV/r	0 (0)	1 (1)
AZT+3TC FPV/r	0 (0)	1 (1)

Notas:

AZT + 3TC – Zidovudina + Lamivudina (INTR)

FPV/r – Combinação Fosamprenavir + Ritonavir (IP)

ATV/r - Combinação Atazanavir + Ritonavir (IP)

LPV/r – Combinação Lopinavir + Ritonavir (IP)

NVP – Nevirapina (INNTR)

ABC – Abacavir (INTR)

EFZ – Efavirenz (INNTR)

IDV/r – Combinação Indinavir + Ritonavir (IP)

APÊNDICE B – FREQUÊNCIAS ALÉLICAS OBSERVADAS, VALOR DO TESTE POWER E EQUILÍBRIO DE HARDY-WEINBERG

Tabela 11 - Frequências alélicas observadas, valor do teste Power e Equilíbrio de Hardy-Weinberg

Gene	SNP	MAF*	Frequência Alélica**		Power	E-HW (<i>p-value</i>)	
			Caso	Controle		Caso	Controle
ABCB1	rs1128503	0,42	0,17	0,34	0,80	0,73	0,88
	rs2235048	0,40	0,22	0,36	0,60	0,4	0,96
ABCG2	rs2231142	0,12	0,14	0,08	0,55	0,29	0,38
ABCC1	rs129081	0,48	0,43	0,41	0,05	0,44	0,58
CYP1A2	rs762551	0,37	0,34	0,26	0,24	0,37	0,27
CYP3A4	rs464637	0,35	0,26	0,32	0,14	0,17	0,35
CYP2A6	rs8192726	0,10	0,06	0,05	0,05	0,66	0,6
CYP2B6	rs1042389	0,23	0,26	0,2	0,17	0,63	0,36
	rs707265	0,26	0,25	0,28	0,06	0,23	1

Notas:

*Minimum Allele Frequency

** Frequências alélicas observadas

ANEXO A – TERMO DE CONSENTIMENTO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título da pesquisa: Polimorfismos em Genes de Vias de Metabolização e Transporte de Drogas e Terapia Antirretroviral Contra o HIV.

Pesquisador responsável

Antonio Victor Campos Coelho
Av. Prof. Moraes Rego, 1235, Cidade
Universitária, Recife, PE. CEP:
50670-901. Telefone: 2101-2542
avccbio@gmail.com

Comitê de Ética em Pesquisa

Rua dos Coelhos, 300, Boa Vista,
Recife, PE. CEP: 50070-550.
Telefone: 2122-4756
comitedeetica@imip.org.br

Convidamos você a participar da pesquisa que estamos realizando sobre diferenças genéticas envolvidas no resultado final da terapia contra o HIV.

Em algumas pessoas o remédio contra o HIV não tem o efeito esperado, que é impedir que o vírus se multiplique. Outras pessoas apresentam efeitos não esperados (adversos) durante o tratamento.

Estamos fazendo essa pesquisa para tentar descobrir se as pessoas que não respondem bem ao tratamento apresentam diferenças genéticas que expliquem porque isso acontece. Essa pesquisa terá como benefício a geração de conhecimento que poderá contribuir para que, no futuro, os médicos melhorem os tratamentos contra o HIV. No fim da pesquisa, você receberá um protocolo resumindo os resultados do trabalho.

Com sua autorização, gostaríamos de utilizar uma pequena quantidade do seu sangue (um total de 4 mL) que será colhido hoje nos exames de rotina de acompanhamento do seu tratamento. Pedimos também a sua autorização para usar na pesquisa dados como idade, sexo e resultados dos seus últimos exames.

Informamos que você não sofrerá prejuízo algum. Os riscos que você poderá sofrer são apenas sintomas provocados pela coleta do sangue, como vermelhidão e dor no braço no local da coleta. Além disso, todas as suas informações pessoais estarão seguras. Nenhuma pessoa fora da pesquisa terá acesso a elas.

Você não terá nenhum problema caso não queira participar ou desistir dessa pesquisa. Asseguramos que você vai continuar a receber o mesmo atendimento que sempre recebeu neste hospital. Caso você tenha alguma dúvida, por favor, entre em contato com os responsáveis pela pesquisa.

Eu, _____

(nome completo) compreendi as informações repassadas e autorizo que seja realizada a avaliação genética a partir da amostra de sangue coletada, e concordo que os dados obtidos sejam utilizados para pesquisa. Declaro que fui informado(a) pela equipe do pesquisador sobre os objetivos do 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 dúvida sobre a pesquisa;
3. Posso a qualquer momento desistir da pesquisa e não vou ter problemas no atendimento do hospital por causa disso;
4. O pesquisador poderá ter acesso ao meu prontuário e que minhas informações pessoais serão mantidas em sigilo;
5. Recebi uma cópia deste documento.

Data de Nascimento	Nº da Identidade	Nº do Prontuário
Assinatura do Voluntário		
Assinatura da Testemunha	Assinatura da Testemunha	
Assinatura do Pesquisador Responsável		

ANEXO B – QUESTIONÁRIO CLÍNICO

Dados Pessoais (apenas para identificação, não serão divulgados)

Nome do Paciente		Data de Nascimento	
Nome da Mãe			
Número do RG	Data do 1º Atendimento	Naturalidade	
Peso (em kg)	Altura (em m)	Sexo	
		M ()	F ()
Endereço			
		Nº	
Bairro	Cidade	CEP	
Telefone	Nível de Escolaridade (anos de estudo)		
O paciente se considera de qual etnia (segundo classificação do IBGE)?			
() Branca	() Parda	() Amarela	
() Negra	() Indígena	() Não informado	

1. Infecção pelo HIV e fatores de risco

Modo de transmissão	
() Transmissão vertical	() Relações sexuais heterossexuais
() Relações sexuais homossexuais	() Transfusão sanguínea
() Durante tratamento para hemofilia	() Acidente com material biológico (seroconversão até 6 meses)
() Uso de drogas injetáveis	() Ignorado
Qual o ano em que o paciente descobriu que tem o HIV?	
Se a paciente for mulher, ela está atualmente grávida?	

SIM ()	NÃO ()	Mês de gestação:	
O paciente tem relações com um parceiro sabidamente HIV+?			
SIM ()	NÃO ()	IGNORADO ()	
O paciente é usuário de drogas injetáveis?			
SIM ()		NÃO ()	

2. Tratamento Anti-HIV

Desde qual data o indivíduo recebe medicamentos anti-HIV?					
O indivíduo está no primeiro esquema anti-HIV?					
SIM ()			NÃO ()		
Se não, quantas vezes houve mudança de esquema?					
Indique o(s) Esquema(s) terapêutico(s)					
Esquema			Remédio	Doses diárias	
1	2	3			
			Abacavir (ABC)	comp. de 300 mg ()	sol. oral 20 mg/ml ()
			Amprenavir (APV)	sol. oral 15 mg/ml ()	
			Atazanavir (ATV)	cáps. de 200 mg ()	150 mg () 300 mg ()
			Darunavir (DRV)	comp. de 300 mg ()	
			Didanosina (ddI)	cáps. de 250 mg ()	400 mg () sol. oral 10 mg/ml ()
			Efavirenz (EFZ)	comp. de 600 mg ()	cáps. de 400 mg () sol. oral 10 mg/ml ()
			Enfuvirtida (T20)	frascos-ampola de 90 mg/ml ()	
			Estavudina (d4T)	cáps. 30 mg ()	sol. oral 1 mg/ml ()
			Fosamprenavir (FPV)	comp. de 700 mg ()	
			Indinavir (IDV)	cáps. de 400 mg ()	
			Lamivudina (3TC)	comp. de 150 mg ()	sol. 10 mg/ml ()
			Lopinavir/ritonavir (LPV/r)	comp. 200 mg + 50 mg ()	sol. oral 80 mg/ml + 20 mg/ml ()
			Nevirapina (NVP)	comp. de 200 mg ()	susp. oral 10 mg/ml ()
			Raltegravir (RAL)	comp. de 400 mg ()	
			Ritonavir (RTV)	cáps. de 100 mg ()	
			Saquinavir (SQV)	cáps. de 200 mg ()	
			Tenofovir (TDF)	comp. de 300 mg ()	
			AZT+3TC	comp. de 300 mg + 150 mg ()	
			Zidovudina (AZT)	cáps. de 100 mg ()	sol. oral 10 mg/ml () sol. injetável 10 mg/ml ()
A mudança do esquema foi devido a falha terapêutica?				SIM ()	NÃO ()
A mudança do esquema foi devido a efeitos adversos?				SIM ()	NÃO ()
Informar os sintomas sentidos que levaram à mudança do esquema:					
() alta de açúcar no sangue			() icterícia		
() anemia			() infarto		
() aumento no colesterol			() insônia		
() cansaço			() lipodistrofia		

() mal estar	() mal estar
() diarreia	() problemas nos nervos (formigamento, dormência)
() dificuldade de concentração	() problemas no fígado
() dor abdominal	() problemas nos rins
() dor de cabeça	() reação alérgica
() dor de estômago	() sonolência
() dor de garganta	() tontura
() enjoo	() tosse
() erupção cutânea	() vômitos
() falta de ar	
O indivíduo tem uma boa aderência ao tratamento?	
SIM ()	NÃO () NÃO INFORMADO ()

3. Comorbidades

O indivíduo apresenta alguma doença pré-existente?		
SIM ()	NÃO ()	IGNORADO ()
Se sim, indique:	O paciente toma alguma medicação para tratar dessa doença?	
Diabetes ()		
Doença autoimune ()		
Hepatite ()		
Hipertensão ()		
Tuberculose ()		
Outras (explique)		
O indivíduo é fumante?		
SIM ()	NÃO ()	
O indivíduo bebe?		
SIM ()	NÃO ()	

4. Infecções Oportunistas

O paciente apresentou alguma infecção oportunista ANTES de iniciar o tratamento?	SIM ()	NÃO ()
O paciente apresentou alguma infecção oportunista DURANTE o tratamento?	SIM ()	NÃO ()
Indique quais foram: (assinale com A para ANTES e D para DURANTE)		
() Tuberculose disseminada/extra-pulmonar/não cavitária	() Candidíase oral	
() Candidíase de traqueia, brônquios ou pulmão	() Candidíase do esôfago	
() Tuberculose pulmonar cavitária ou não especificada	() Herpes zoster	
() Herpes simples	() Disfunção do SNC	

() Diarreia por 1 mês ou mais	() Febre >38 °C por 1 mês ou mais*
() Perda de peso >10%*	() Fadiga ("moleza")*
() Dermatite persistente	() Anemia e/ou linfocitopenia e/ou trombocitopenia
() Tosse persistente ou pneumonia*	() Íngua por 1 mês ou mais
() Câncer cervical invasivo (HPV)	() Pneumonia por <i>Pneumocystis carinii</i>
() Toxoplasmose	*não causadas por tuberculose

Medicamentos para Infecções Oportunistas

Esquema			Remédio	Dosagens
1	2	3		
			Aciclovir	comp. de 200 mg () FA de 250 mg ()
			Acetato de Caspofungina	FA de 50 mg ()
			Ácido folínico	comp. de 15 mg () Ácido folínico
			Anfotericina B	FA de 50 mg ()
			Azitromicina	comp. de 500 mg () Azitromicina
			Ciprofloxacina	comp. de 500 mg () Ciprofloxacina
			Cetoconazol	comp. de 200 mg ()
			Claritromicina	comp. de 500 mg ()
			Clindamicina	comp. de 300 mg ()
			Espiramicina	comp. de 1,5 mui ()

Medicamentos para Infecções Oportunistas (continuação)

Esquema			Remédio	Dosagens
1	2	3		
			Ganciclovir	comp. de 250 mg () FA de 500 mg ()
			Itraconazol	cáps. de 100 mg ()
			Pantamioina	FA de 300 mg ()
			Pirimetamina	comp. de 25 mg ()
			Pravastatina	comp. de 20 mg ()
			Respigard II	()
			Sulfadiazina	comp. de 500 mg ()
			Sulfamet. + trimet.	comp. de 400/80 mg () susp. 400/80 mg/6 ml ()

5. Acompanhamento do Tratamento anti-HIV

DATA	CARGA VIRAL	CD4+	CD8+	CD45+			

ANEXO C – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

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 2273 – 11 intitulado **“Polimorfismos em genes de vias de Metabolização e Transporte de Drogas e terapia Antirretroviral contra o HIV - 1.”** apresentado pelo (a) pesquisador (a) **Antonio Victor Campos Coelho** foi **APROVADO** pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do Instituto de Medicina Integral Prof. Fernando Figueira – IMIP, em reunião de 11 de maio de 2011.

Recife, 12 de maio de 2011


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