



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**O PAPEL DA FARMACOGENÉTICA NA TERAPIA DO HIV**

Trabalho submetido por  
**Filipa Isabel Águas Jesus**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

**Outubro de 2014**





# **INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ**

## **MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

### **O PAPEL DA FARMACOGENÉTICA NA TERAPIA DO HIV**

Trabalho submetido por  
**Filipa Isabel Águas Jesus**  
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por  
**Professora Doutora Ana Clara Ribeiro**

**Outubro de 2014**



## **Dedicatória**

Aos meus pais e namorado , o meu sincero obrigado pelo apoio e compreensão , fundamentais à realização dos meus objetivos, e que sempre me acompanharam durante todo este processo.

## **Agradecimentos**

Quero deixar o meu muito obrigado a todos os professores do Instituto Egas Moniz por serem inesgotável fonte de inspiração e conhecimento, em particular à Professora Doutora Ana Clara Ribeiro por todo o apoio e disponibilidade para a elaboração desta análise bibliográfica.

Aos meus pais que sempre me apoiaram durante esta longa viagem. Ao meu namorado, pela paciência, apoio e compreensão demonstrados durante estes anos.

A todos que, das formas mais diversificadas, contribuíram para a realização deste trabalho, aqui deixo o meu agradecimento.

## RESUMO

A pandemia da SIDA já matou cerca de 36 milhões de pessoas em todo o mundo e, hoje em dia, mais de 35.3 milhões vivem com HIV. A HAART tornou, desde a sua implementação, esta doença incurável e devastadora, numa doença crónica gerível.

No entanto, o plano terapêutico para a HAART nem sempre é bem sucedido e indivíduos sob esta terapia são obrigados a descontinuar o tratamento ou devido a uma baixa eficácia ou a uma elevada toxicidade levando, potencialmente, a reações de hipersensibilidade severas ou mesmo fatais. Estas diferenças interindividuais residem, em grande parte, no genoma de cada paciente, sendo este o maior responsável pelas grandes variações na resposta terapêutica.

A farmacogenética tenta investigar estas relações genéticas com o objetivo de customizar individualmente cada terapia ainda na sua fase de planeamento, levando assim à escolha da combinação ideal de fármacos antirretrovirais para cada paciente tendo em vista o aumento máximo da eficácia terapêutica com o mínimo de toxicidade.

Este trabalho baseia-se numa análise bibliográfica que tem como objetivo relacionar a farmacogenética e a terapia do HIV, abordando os diferentes tipos de fármacos na terapia antirretroviral: os inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa, os inibidores não-nucleosídeos da transcriptase reversa e os inibidores da protease, e a forma como as variações em diversos genes modificam a resposta terapêutica. Esta análise debruça-se então sobre as principais isoformas de algumas proteínas de metabolização e a influência destas sobre os principais fármacos utilizados atualmente como parte da HAART. É ainda feita uma, mais breve, menção às três novas classes de antirretrovirais: os inibidores de fusão, os antagonistas CCR5 e os inibidores da integrase. São delineadas as investigações passadas e os mais recentes avanços, bem como quais as possíveis avenidas a percorrer em investigações futuras.

*Palavras chave:* HIV. Farmacogenética. Toxicidade. Eficácia.

## **ABSTRACT**

The AIDS pandemic has killed around 36 million people worldwide and, today, more than 35.3 millions live with HIV. HAART has turned, since its implementation, this incurable and devastating disease in one that's chronic and manageable.

However, the therapeutical protocol for the HAART is not always successful and patients under this therapy must discontinue treatment due to a lack of efficiency or high toxicity, leading into potentially severe, or even fatal, hypersensitivity reactions. Presently it is believed that these interindividual differences in the acceptance of treatment lie, mostly, within the genome of each patient, with it being the main cause for these therapeutical variations.

Farmacogenetics attempts to investigate the genetic relations with the objective of custom tailor each therapy to a particular patient, still during the planning phase, leading to the ideal combination of antiretroviral drugs to each patient with the purpose of maximizing efficiency while keeping toxicity to a minimum.

This work is based upon a bibliographic review and its objective is to relate farmacogenetics and HIV therapy, looking closely at several types of antiretroviral drugs: the nucleotide reverse transcriptase inhibitors, the non-nucleotide reverse transcriptase inhibitors and the protease inhibitors and the way that several genes change the therapeutical response. This analisis considers the main isoforms of some metabolic proteins and their influence over the main antiretroviral drugs used nowadays as part of the HAART protocol. It is also done a, more brief, mention to another three antiretroviral classes: fusion inhibitors, CCR5 antagonists and integrase inhibitors. Past investigations and the most recent advances are outlined as well as the possible avenues to thread in future investigations.

*Keywords:* HIV. Farmacogenetics. Toxicity. Efficacy.

## ÍNDICE GERAL

ÍNDICE DE FIGURAS .....	11
ÍNDICE DE TABELAS.....	13
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS .....	14
1. Introdução.....	17
2. Elementos chave do ciclo do HIV .....	19
3. Genes e tropismo do HIV .....	20
3.1. Gag-Pol .....	21
3.2. Env .....	22
3.3. Transcriptase reversa .....	22
4. Controlo da replicação do HIV .....	23
4.1. Inibidores da transcriptase reversa (NRTIs e NNRTIs).....	23
4.2. Inibidores da protease (PIs) .....	23
4.3. Obstáculos ao sucesso da terapia antirretroviral .....	23
4.4. Tentativas de encontrar soluções face à variabilidade viral.....	23
4.4.1. Lista de mutações “IAS” .....	23
4.4.2. Terapia antirretroviral de alta eficácia (HAART).....	25
4.4.2.1. Sucesso da HAART .....	25
5. Farmacogenética aplicada ao HIV .....	27
5.1. Determinantes genéticos da eficácia e toxicidade da HAART .....	28
5.1.1. SNPs: Fonte de variabilidade .....	28
5.1.2. SNPs e a previsibilidade da resposta antirretroviral.....	28

5.1.3.	Tendência étnica para o aparecimento de determinados SNPs .....	29
5.1.4.	SNPs, sequenciação genética e haplótipos. ....	29
5.1.5.	Principais proteínas envolvidas na farmacocinética e farmacodinâmica dos antirretrovirais.....	31
5.1.5.1.	Citocromo P450 (CYP450).....	32
5.1.5.1.1.	CYP450 como metabolizador de antirretrovirais.....	33
5.1.5.2.	Proteínas “multi-drug resistant” (MRPs) .....	33
5.1.5.3.	Glicoproteína-P (P-gp) .....	34
5.1.5.4.	Organic Anion Transporter Protein (OATP).....	36
5.1.5.5.	Apolipoproteínas .....	37
5.1.5.5.1.	APOA1, APOC3, APOA4 e APOA5.....	37
5.1.5.5.2.	ApoE .....	38
5.1.5.6.	Sistema HLA (Reações de Hipersensibilidade) .....	38
5.1.5.6.1.	Moléculas da classe I .....	40
5.1.5.6.2.	Moléculas da Classe II .....	42
5.1.5.6.3.	Moléculas da Classe III.....	42
5.1.5.7.	UDP-Glucuroniltransferases (UGTs).....	42
5.1.5.8.	Sumário das associações entre SNPs das diversas proteínas e a terapia antirretroviral .....	43
5.2.	Principais Classes de antirretrovirais .....	45
5.2.1.	Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa .....	45

5.2.1.1.	Principais vias metabólicas dos NRTIs.....	46
5.2.1.2.	Determinantes genéticos da eficácia .....	46
5.2.1.2.1.	Zidovudina e Lamivudina trifosfato.....	46
5.2.1.3.	Determinantes genéticos da toxicidade.....	47
5.2.1.3.1.	Reação de hipersensibilidade .....	47
5.2.1.3.1.1.	Estudos realizados.....	48
5.2.1.3.2.	Insuficiência renal .....	49
5.2.1.3.2.1.	Estudos Realizados.....	50
5.2.1.3.3.	Pancreatite e lipoatrofia periférica .....	50
5.2.1.3.4.	Neuropatia periférica.....	51
5.2.1.3.4.1.	Estudos realizados.....	52
5.2.2.	Inibidores não-nucleosídeos da transcriptase reversa.....	53
5.2.2.1.	Principais via metabólicas dos NNRTIs .....	53
5.2.2.2.	Determinantes genéticos da eficácia .....	55
5.2.2.2.1.	Estudos realizados.....	55
5.2.2.3.	Determinantes genéticos da toxicidade.....	58
5.2.2.3.1.	Toxicidade do sistema nervoso central .....	58
5.2.2.3.1.1.	Estudos realizados.....	60
5.2.2.3.2.	Hepatotoxicidade.....	62
5.2.2.3.2.1.	Estudos realizados.....	63

5.2.2.3.3. Dislipidemia .....	63
5.2.2.4. Medicação concomitante.....	64
5.2.3. Inibidores da Protease.....	65
5.2.3.1. Principais vias metabólicas .....	65
5.2.3.2. Determinantes genéticos da eficácia .....	67
5.2.3.3. Determinantes genéticos da toxicidade.....	69
5.2.3.3.1. Hipertrigliceridemia .....	70
5.2.3.3.2. Hiperbilirrubinemia não-conjugada .....	70
5.2.3.3.2.1. Estudos realizados .....	71
5.3. Outras classes de antirretrovirais .....	72
5.3.1. Inibidores de fusão.....	72
5.3.1.1. Estudos realizados .....	73
5.3.2. Antagonistas CCR5 .....	74
5.3.2.1. Estudos realizados .....	74
5.3.3. Inibidores da integrase.....	76
5.3.3.1. Estudos realizados .....	77
6. Perspetivas Futuras.....	78
7. Conclusão.....	80
8. Bibliografia.....	83

## ANEXO I

### Principais fatores genéticos e a farmacocinética dos ARVs

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo do HIV .....	19
Figura 2 – Organização genómica do HIV-1 .....	20
Figura 3 - Representação esquemática do genoma e vírus do HIV-1.....	22
Figura 4 - Comparação relativa entre terapias bem sucedidas e número de mutações IAS presentes em pacientes HIV.....	25
Figura 5 - Número total de mortes relacionadas com o HIV em países de 2º e 3º Mundo desde 1995 até 2011.....	26
Figura 6 – Vista geral da expressão funcional do ABCB1 pelo corpo. As linhas azuis indicam a localização do ABCB1. As setas vermelhas indicam a direção do transporte mediado pelo ABCB1. As setas verdes representam a excreção do corpo dos substratos da ABCB1.....	35
Figura 7 - Localizações das diversas classes do MHC no cromossoma 6.....	39
Figura 8 - Diagrama esquemático da molécula HLA classe I .....	40
Figura 9- Diagrama esquemático da molécula HLA classe II .....	42
Figura 10 - O Complexo de Histocompatibilidade Major (MHC). O Complexo de Histocompatibilidade Major é um grande grupo de genes encontrados no braço curto do cromossoma 6. O MHC está dividido nas regiões classe I, II e III, cada uma contendo grupos de genes com funções relacionadas. Algumas das proteínas codificadas pelos genes influenciam o risco de toxicidade antirretroviral. ....	47
Figura 11 - (A) "Rash" macular cutâneo num paciente a receber terapia com abacavir. (B) Teste do adesivo que confirma que o rash é proveniente de uma hipersensibilidade ao abacavir. ....	48

- Figura 12 - Via metabólica do Efavirenz. A baixa atividade do CYP2B6, devido a polimorfismos genéticos, resulta em níveis de plasma EFV que são associados a uma mais elevada incidência de toxicidade no sistema nervoso central .....54
- Figura 13 - Impacto dos polimorfismos CYP2B6 516G>T nas concentrações plasmáticas de EFV e NVP de acordo com a etnia. ....56
- Figura 14 - Impacto dos polimorfismos CYP2B6 983T>C nas concentrações plasmáticas de EFV e NVP de acordo com a etnia. ....57
- Figura 15- Média dos níveis plasmáticos do efavirenz de acordo com o genótipo CYP2B6-516. GG, genótipo comum; GT, genótipo heterozigoto; TT, genótipo homozigoto polimórfico.....60
- Figura 16- Influência do SNP OATP1A2 38 A>G na concentração do DRV no LCR em terapias de 1x/Dia e 2x/Dia.....68
- Figura 17 - Metabolismo hepático da bilirrubina e potenciais mecanismos de interferência do atazanavir (ATV). A uridina difosfato glucuroniltransferase 1A1 (UGT1A1) é a enzima do fígado que conjuga a bilirrubina. A inserção de um dinucleótido extra (TA) no gene promotor da UGT1A1 resulta num decréscimo da atividade enzimática. O ATV inibe a UGT1A1, que por sua vez resulta em hiperbilirrubinémia.....70

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Proteínas codificadas pelo genoma do HIV como inferido por Votteler (2009), Menéndez-Arias (2013), Phalora <i>et al.</i> (2013). .....	21
Tabela 2 – Localização alélica e cromossomal dos SNPs do citocromo P450 relevantes (compilado de: The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee, s.d.; Yale University, 2014).....	30
Tabela 3 - Classificação das principais proteínas envolvidas no metabolismo dos ARVs, como pertencentes a enzimas da fase I, fase II ou de ação celular .....	31
Tabela 4 - Associações chave relatadas para os Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NRTIs), Inibidores Não-Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NNRTIs) e Inibidores da Protease (PIs) .....	44
Tabela 5 - Antirretrovirais distribuídos pelas três principais classes.....	45
Tabela 6 - Polimorfismos genéticos na isoenzima CYP2B6 e a sua influência no metabolismo hepático dos antirretrovirais. ....	60
Tabela 7 - Taxas cumulativas de descontinuação utilizando o Modelo de Regressão de Cox.....	71
Tabela 8 – Número de cópias virais e de células CD4 de ambos os pacientes 17 e 24 durante o teste clínico com maraviroc (MVC). Pode ser observada a falha virológica para ambos os pacientes no decorrer do teste. ....	75
Tabela 9 – Fenótipos de resistência ao maraviroc (MVC) dos Env recolhidos antes e após a falha virológica dos pacientes 17 e 24. ....	76
Tabela 10 - Os custos principais considerados na análise da eficácia de custos incluem: (a) os custos de suprimento mensal de regimes HAART; (b) os custos de toxicidade e (c) os custos para o teste da pesquisa de HLA B*5701 .....	78

## **LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS**

3TC	Lamivudina
A	Adenina
AAG	alfa-1-acid glycoprotein
ABC	Abacavir
ABCB1	Gene “multi-drug resistant” 1
Apo	Apolipoproteína
ART	Terapia Antirretroviral
ARV	Antirretroviral
ATP	Trifosfato de Adenosina
ATV	Atazanavir
AZT	Zidovudina
BCRP	Breast Cancer-related protein Proteína relacionada com o cancro da mama
BSP	Bromosulfophthalein
C	Citosina
CA	Cápside
CCR5	Chemokine receptor type 5 Receptor quimiocina tipo 5
CETP	colesterilester tranferase
CFTR	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator Receptor da condutância transmembranar da fibrose cística
CS	Clivage Science
CYP	Citocromo P
DRV	Darunavir
ddC	Zalcitabina
ddI	didanosina
DHHS	Department of Health and Human Services
dNTPs	Trifosfato de desoxinucleotídeo
d4T	Stavudina

*Lista de siglas e abreviaturas*

EFV	Efavirenz
ENF	Enfuvirtide
ETR	Etravirine
FI	Inibidor de fusão
FCHR	Forum for Collaborative HIV Research
FDA	Food and Drug Administration
G	Guanina
gp	glicoproteína
HAART	Highly Active Antiretroviral Therapy Terapia Antirretroviral de Alta Eficácia
HIV	Virús da Imunodeficiência Humana
HLA	Human Leukocyte Antigen Antigénio Leucocitário Humano
HR1	região "heptad repeat 1"
HR2	região "heptad repeat 2"
hOAT	human Organic Anion Transporter Transportadores humanos de Aniões Orgânicos
IAS	International Aids Society
IDV	Indinavir
IECAs	Inibidores de enzima conversora da Angiotensina
IN	Integrase
INI	Inibidor da Integrase
LCR	Líquido Céfalo-raquidiano
LPV	Lopinavir
LST-1	Liver-Specific organic anion Transporter 1 Transportador de aniões orgânicos Específico do Fígado 1
MA	Matriz
MDR	Gene "multi-drug resistant"
MHC	Complexo major de histocompatibilidade
MOTIVATE	Maraviroc versus Optimal Therapy In Viremic Antiretroviral Treatment- -Experienced patients
MRP	Proteína "multi-drug resistant"

NC	Nucleocápside
NFV	Nelfinavir
NNRTI	Non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitors Inibidor não nucleosídeo da transcriptase reversa
NRTI	Nucleoside reverse-transcriptase inhibitors Inibidor nucleosídeo da transcriptase reversa
NVP	Nevirapine
OATP	Organic Anion Transporter Proteín Proteína Transportadora de Aniões Orgânicos
ORM1	Orosomucóide
PI	Protease inhibitor Inibidor da protease
PBS	Peptide Binding Site
PR ou PRO	Protease
PXR	Receptor pregnane X
RMAm	RNA mensageiro
RT	Transcriptase Reversa
RTV	Ritonavir
SIDA	Síndrome de Imunodeficiência Adquirida
SIVs	Virús de imunodeficiência de símios
SLC	Superfamília de genes transportadores de solutos
SNC	Sistema nervoso central
SNPs	Single Nucleotide Polymorphism Polimorfismos de um ácido nucleótido
SPINK-1	Serine protease inhibitor Kazal-type 1 Inibidor de protease da serina kazal tipo 1
SQV	Saquinavir
T	Timina
TB	Tuberculose
TDF	Tenofovir
TFP	Proteína transframe
UGT	Uridina difosfato glucuroniltransferase

## 1. Introdução

O HIV/SIDA afeta atualmente 35,3 milhões de pessoas em todo o mundo, das quais, 2,3 milhões são recém-infetados pelo vírus segundo a World Health Organization (2014). Uma subida em relação aos 33 milhões relatados por Rakhmanina & van den Anker (2010), que citam a mesma fonte em 2007.

Desde a sua identificação em 1981, o HIV já reclamou a morte de 30 milhões de pessoas com 1,6 milhões dessas mortes, estimadas em 2012 (World Health Organization, 2013, 2014).

Uma significativa quantidade de recursos quer públicos, quer privados, têm sido dedicados durante os últimos anos, a providenciar acesso à terapia antirretroviral nos países de segundo e terceiro mundo (Lce *et al.*, 2011; Spaulding *et al.*, 2011).

A terapia antirretroviral chega atualmente a 8,1 milhões de indivíduos nesses países, representando este número um aumento de cerca de 19 vezes o estimado em 2003. Esta chega também a cerca de 566.000 crianças em todo o mundo, um notório aumento deste 2005 onde chegava a apenas 75.000 (World Health Organization, 2014).

Cada fármaco administrado é metabolizado de forma diferente de indivíduo para indivíduo, sendo muito dependente do genótipo deste. A farmacogenética constrói a ponte entre a variabilidade inter-individual e a metabolização dos fármacos de modo a maximizar o efeito terapêutico, minimizando, simultaneamente, a toxicidade destes para o indivíduo. Através da análise de determinadas mutações e variações genéticas (SNPs) e a sua correspondente variação fenotípica do metabolismo farmacológico, pretende-se hoje em dia identificar as combinações de fármacos mais eficazes que possam customizar uma terapêutica com máxima eficácia possível e que envolva o menor risco para o indivíduo.

A HAART (Terapia Antirretroviral de Alta Eficácia) sendo uma terapia que envolve a associação de diversos fármacos pertencentes a diversas classes, em múltiplas combinações, torna o processo de identificação e relação entre o genótipo do indivíduo e a resposta terapêutica de um determinado fármaco um processo bastante mais complexo do que numa terapêutica em que apenas um fármaco é utilizado (Tozzi, 2010). O uso apropriado da HAART suprime a replicação do HIV de uma forma constante, levando tipicamente a uma

indetectável carga viral no plasma e parando a progressão da doença para SIDA e morte prematura. Mais, a carga viral declina rapidamente no plasma e, subsequentemente, noutros fluídos biológicos (incluindo sémen, fluídos vaginais e mucosa retal), reduzindo a probabilidade de transmissão do HIV (Montaner *et al.*, 2014).

Após mais de década e meia desde que a HAART se tornou o padrão terapêutico na infeção pelo HIV, os seus benefícios continuam inquestionáveis e demonstrou reduzir significativamente a mortalidade e a morbilidade dos pacientes infetados com o HIV em diversos estadios da doença (Ong *et al.*, 2014). Dado que a infeção pelo HIV permanece incurável e, como tal, requer tratamento por tempo indefinido, os fatores genéticos determinantes da variabilidade inter-individual na eficácia e toxicidade dos fármacos são agora sujeitos a pesquisa intensa (Rodríguez-Nóvoa *et al.*, 2006).

Seis classes de agentes antirretrovirais estão disponíveis para combinação em regimes de terapia antirretroviral de alta eficácia (HAART): Os inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa (NRTIs), os inibidores não-nucleosídeos da transcriptase reversa (NNRTIs), Inibidores da Protease (PIs), inibidores de fusão (FIs), antagonistas CCR5 e inibidores da integrase (INI) (Rakhmanina & van den Anker, 2010; Murray *et al.*, 2011). A terapia para a infeção com o HIV-1 consistindo de um inibidor não-nucleosídeo da transcriptase reversa (NNRTI) ou um inibidor da protease (PI) em associação com dois inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa (NRTIs) resulta, tipicamente, em benefícios imunológicos e evita que ocorra falha virológica (Rakhmanina & van den Anker, 2010; Haas *et al.*, 2011; Mishra & Shrivastav, 2014). Esta abordagem à HAART destina-se a minimizar as probabilidades que o vírus desenvolva mutações “de escape” à terapia (Rosen-Zvi *et al.*, 2008).

Sinto que vivemos numa época dourada para o avanço e descobertas científicas o que torna o contemporâneo numa altura apaixonante para se conduzirem investigações que têm a potencialidade de mudar o quotidiano de milhões de pessoas. Muito poucas destas pesquisas terão o impacto que o tratamento/gestão do HIV tem, principalmente quando olhamos para os números mencionados anteriormente.

## 2. Elementos chave do ciclo do HIV

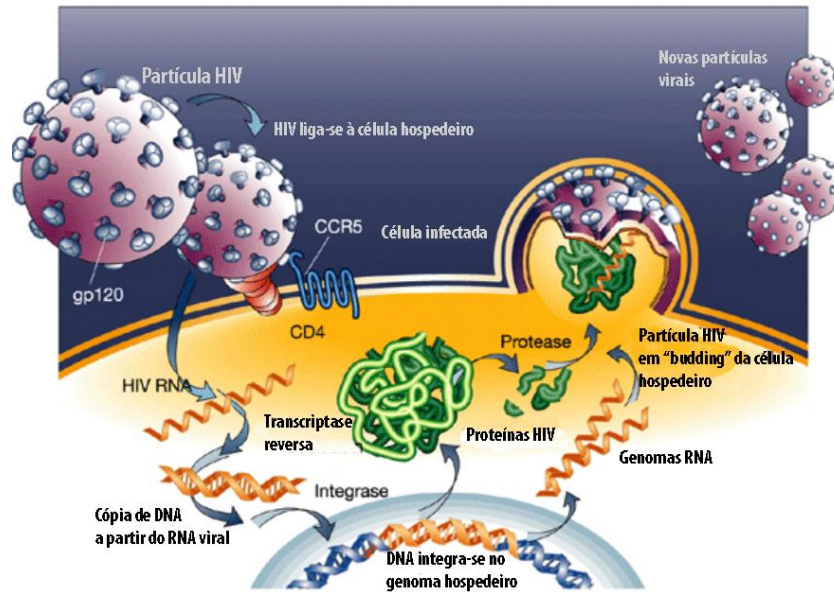


Figura 1 - Ciclo do HIV (adaptado de Ternopil State Medical University, s.d.)

Os vírus da imunodeficiência humana HIV-1 e HIV-2 causam a destruição dos linfócitos T CD4+ nos seus respectivos hospedeiros, resultando no desenvolvimento do síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA). A entrada do HIV nas células do hospedeiro é mediada pelas glicoproteínas da cápsula viral gp120 e gp41 (Kwong *et al.*, 1998; Tran *et al.*, 2012). A glicoproteína gp120 liga-se sequencialmente à molécula receptora CD4 e em seguida à CCR5 (receptor quimiocina tipo 5), após uma mudança de conformação induzida pela primeira. Despoleta-se assim a fusão das membranas celular e viral mediada pela glicoproteína gp41, mais especificamente por duas regiões denominadas “heptad repeat” 1, próxima ao N terminal, e 2, próxima ao C terminal (HR1 e HR2). A região HR1 forma uma estrutura helicoidal e a região HR2 volta-se para dentro da área hidrofóbica da estrutura helicoidal HR1, formando uma outra estrutura que contém 6 hélices termodinamicamente estáveis levando à fusão completa das membranas vírus-célula. (Derdeyn *et al.*, 2001; Murga *et al.*, 2006; Li *et al.*, 2011).

A identificação das sequências da CCR5 entre indivíduos que eram seronegativos para o HIV-1 e cujas células-T eram resistentes à infecção viral, revelou uma deleção de 32pb (CCR5Δ32). Esta deleção conduz a uma mudança de forma e a uma dramática alteração de estrutura da proteína, de tal forma que o receptor falha em ser expresso na superfície da célula. Quando presente em homozigotia, esta deleção protege completamente contra a entrada do vírus na célula (Knight, 2009; Wolstein *et al.*, 2014).

A transcriptase reversa está ligada ao RNA viral e, utilizando nucleótidos da célula hospedeiro, codifica um DNA de cadeia simples a partir deste, fazendo duas passagens para um DNA de cadeia dupla e ligando-se em seguida a uma integrase que permite que o DNA viral se junte ao DNA da célula hospedeira, estabelecendo assim a infecção para o resto da vida (Howard Hughes Medical Institute, 2007; Aids Info, 2013).

Depois da replicação dos componentes virais e da formação de vírus imaturos a partir da célula infetada, as cadeias poliproteicas necessitam ser individualizadas nos diversos elementos que compõem o vírus. Isto é feito por uma protease que quebra as cadeias multi-peptídicas, permitindo-as coalescer formando as estruturas que compõem o vírus maduro que fica assim pronto a infetar outras células (Howard Hughes Medical Institute, 2007; Aids Info, 2013).

### 3. Genes e tropismo do HIV

O genoma do HIV desempenha diversos papéis no ciclo de vida celular deste vírus e contém três genes “major”, 5’ *gag-pol-env* 3’. Estes genes codificam para as principais estruturas proteicas, assim como para enzimas essenciais. O genoma do HIV contém ainda uma série de genes que codificam para proteínas reguladoras essenciais e acessórias (Menéndez-Arias, 2013; Phalora *et al.*, 2013). No caso do HIV-1 são elementos reguladores essenciais: *tat* e *rev*, e temos como elementos reguladores acessórios: *vif*, *vpr*, *vpu* e *nef* (Votteler, 2009).

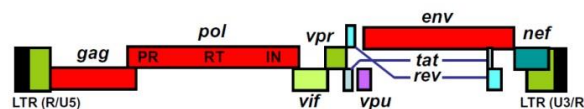


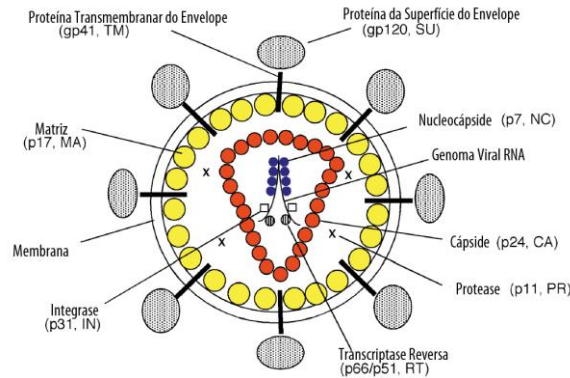
Figura 2 – Organização genômica do HIV-1 (Menéndez-Arias, 2013).

**Tabela 1 - Proteínas codificadas pelo genoma do HIV como inferido por Votteler (2009), Menéndez-Arias (2013), Phalora *et al.* (2013).**

Proteínas codificadas pelo genoma do HIV			
Classe	Nome do Gene	Produtos Proteicos Primários	Produtos proteicos processados
Proteínas estruturais virais	gag	Poliproteína Gag	MA, CA, SP1, NC, SP2, P6
	pol	Poliproteína Pol	RT, RNase H, IN, PR
	env	gp160	gp120, gp41
Elementos reguladores essenciais	tat	Tat	
	rev	Rev	
Elementos reguladores acessórias	nef	Nef	
	vpr	Vpr	
	vif	Vif	
	vpu	Vpu	

### 3.1. Gag-Pol

As proteínas Gag do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) são essenciais para este, uma vez que possuem um papel funcional no ciclo viral. Estas coordenam o tráfico viral, ligação membranar, montagem, packaging de cofatores, “budding” e modulação viral. As proteínas Gag são geradas através da maturação viral, sendo essenciais no ciclo de vida ao permitirem a maturação do virião imaturo num vírus infeccioso. Esta maturação é feita através do processo proteolítico, levado a cabo pela protease viral (PR), em locais de clivagem específicos (CS) das proteínas: precursor Gag (Pr55gag) e precursores GagPol (Pr160GagPol). O precursor Gag é clivado dentro da partícula viral em três proteínas estruturais principais: matriz (P17 ou MA), cápside (P24 ou CA) e nucleocápside (P7 ou NC), flaqueadas por dois segmentos espaçadores (P1 e P2) com funções reguladoras (Torrecilla *et al.*, 2014). Durante a tradução do precursor Gag, ocorre um frameshift ribossomal -1 ocasional. Este frameshift leva à produção de uma proteína precursora GagPol, a abundância da qual é de aproximadamente 5% da do precursor Gag. O precursor GagPol contém as principais proteínas estruturais: MA, CA, NC, uma proteína transframe (TFP), P6pol e três enzimas de replicação viral: integrase (IN), transcriptase reversa (RT) e protease (PR) (Paulus, 1999; Delviks-Frankenberry *et al.*, 2013; Torrecilla *et al.*, 2014)



**Figura 3 - Representação esquemática do genoma e vírus do HIV-1 (Freed, 1998)**

### 3.2. Env

O gene *env* do HIV-1 codifica para a única proteína viral expressa à superfície: a proteína Env, uma glicoproteína de 160 kD de peso molecular (gp160). Sendo a única que permite a fusão membranar e entrada do vírus nas células hospedeiras, o HIV-1 está totalmente dependente desta proteína para esta função (Arrildt *et al.*, 2013). Após a tradução, a gp160 é clivada em duas: a gp120 e a gp41, que permanecem ligadas não-covalentemente para formar uma única subunidade de um “espigão” trimérico na superfície da partícula viral (Lin *et al.*, 2001). A subunidade C-terminal, gp41, contém três domínios distintos: um citoplasmático, um membranar e outro extracelular (Figura 3), que medeiam a mudança conformacional necessária para a fusão (Arrildt *et al.*, 2013). A subunidade N-terminal, gp120, fica totalmente fora da membrana viral (Figura 3) (Freed, 1998; Williamson, 2003).

Muita da variabilidade *env* é guiada pela fuga ao sistema imunitário (Williamson, 2003). No entanto, mudanças na sequência da gp120 podem também alterar as interações com as células hospedeiro. Durante o curso da infecção, populações virais podem evoluir para usar o receptor CD4 de forma diferente ou utilizar co-receptores alternativos de forma a ganharem entrada noutras células hospedeiro (Arrildt *et al.*, 2013).

### 3.3. Transcriptase reversa

A transcriptase reversa (RT) é a enzima responsável pela conversão de um genoma RNA de cadeia simples num DNA de cadeia dupla com a capacidade de integrar o genoma da célula infetada (Menéndez-Arias, 2013).

## **4. Controlo da replicação do HIV**

### **4.1. Inibidores da transcriptase reversa (NRTIs e NNRTIs)**

Os inibidores da transcriptase reversa em uso clínico podem ser classificados em NRTIs ou NNRTIs. NRTIs são nucleosídeos que são convertidos, no interior da célula, em derivados de trifosfato que competem com os trifosfatos de desoxinucleotídeos (dNTPs) naturais para incorporação na nascente cadeia de DNA. O alongamento do DNA é então bloqueado devido à falta de um 3'-OH no anel ribose. OS NNRTIs são pequenos compostos hidrofóbicos, que se ligam num local hidrofóbico adjacente ao centro ativo da polimerase, na subunidade p66 da transcriptase reversa (Pedersen & Pedersen, 1999; Menéndez-Arias, 2013).

### **4.2. Inibidores da protease (PIs)**

Os PIs são usados no tratamento de pacientes seropositivos e atuam no estadió final da replicação do vírus ao interferirem com a enzima protease do HIV, que é responsável pela clivagem das poliproteínas virais Gag e GagPol em maduras e funcionais enzimas e estruturas proteicas (Mishra & Shrivastav, 2014).

### **4.3. Obstáculos ao sucesso da terapia antirretroviral**

O vírus do HIV tem uma elevada taxa de mutações, nomeadamente os 99 resíduos de aminoácidos da protease (PR) e os 440 resíduos de aminoácidos da transcriptase reversa (RT), são locais de excelência para estas (Rosen-Zvi *et al.*, 2008). A região codificadora para a gp120 do gene *env* evolui mais rápido que qualquer outra região do genoma, mudando cerca de 1-2% todos os anos (Arrildt *et al.*, 2013).

Os humanos demonstram uma extraordinária variabilidade na vulnerabilidade à infeção pelo HIV-1, e podem mesmo existir grandes variações da carga viral exibida por diferentes indivíduos, ainda durante o período assintomático da doença (Fellay *et al.*, 2007).

### **4.4. Tentativas de encontrar soluções face à variabilidade viral**

#### **4.4.1. Lista de mutações “IAS”**

A International Aids Society (IAS) mantém uma lista de mutações das sequências RT e PR, que são conhecidas como desempenhando um papel na resistência aos fármacos. Esta

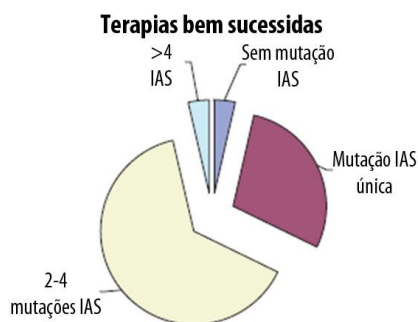
lista, é constantemente atualizada e conhecida como as “mutações IAS” e consiste numa possibilidade de contornar este problema (Johnson *et al.*, 2007; Rosen-Zvi *et al.*, 2008).

Uma conhecida mutação catalogada pela IAS é a mutação M184V, que denomina a substituição de uma metionina por uma valina no resíduo 184, alterando a geometria entre os resíduos 183 e 186 da transcriptase reversa do HIV-1. Esta mutação já foi determinada como contribuindo para uma redução de suscetibilidade ao abacavir, um antirretroviral inibidor da transcriptase reversa. Esta mutação pode mesmo conferir resposta virológica nula ao abacavir, quando em associação com quatro ou mais mutações análogas da timidina, um nucleósido resultante da ligação de uma timina a um anel de desoxirribose (Diallo *et al.*, 2003; Johnson *et al.*, 2008).

A mutação Q148K, também catalogada pela International AIDS Society, comporta a substituição de uma glutamina por uma lisina na posição 148 (Q148K), o que confere mudanças na integrase viral (IN). Esta substituição já foi demonstrada como conferindo resistência aos antirretrovirais lamivudina, um inibidor nucleósido da transcriptase reversa (tal como o abacavir visto anteriormente), e ao raltegravir, um inibidor da integrase. Esta mutação foi discutida numa conferência realizada na Cidade do México em 2008 pelo Dr. Daniel Kuritzkes da Escola Médica de Harvard e por Fransen *et al.*, no seu artigo de 2012.

É facilmente perceptível que se uma determinada mutação tiver sido identificada e fizer parte da lista IAS, pode ser escolhido um determinado antirretroviral em detrimento de outro(s) que se saibam não ser terapêuticamente eficazes.

Rosen-Zvi *et al.*, (2008) encontraram uma definitiva correlação entre terapias bem sucedidas e as mutações já descobertas e referenciadas pelo IAS (Figura 4). O número de terapias de sucesso em mutações IAS são bastante mais numerosas do que os sucessos que envolvem terapias em mutações não-IAS.



**Figura 4 - Comparação relativa entre terapias bem sucedidas e número de mutações IAS presentes em pacientes HIV (Rosen-Zvi *et al.*, 2008).**

Como se pode ver pelo gráfico da figura 4, a menor taxa de sucessos existe nos casos em que o número de mutações catalogadas é superior a 4 ou em mutações não catalogadas pelo IAS.

#### 4.4.2. Terapia antirretroviral de alta eficácia (HAART)

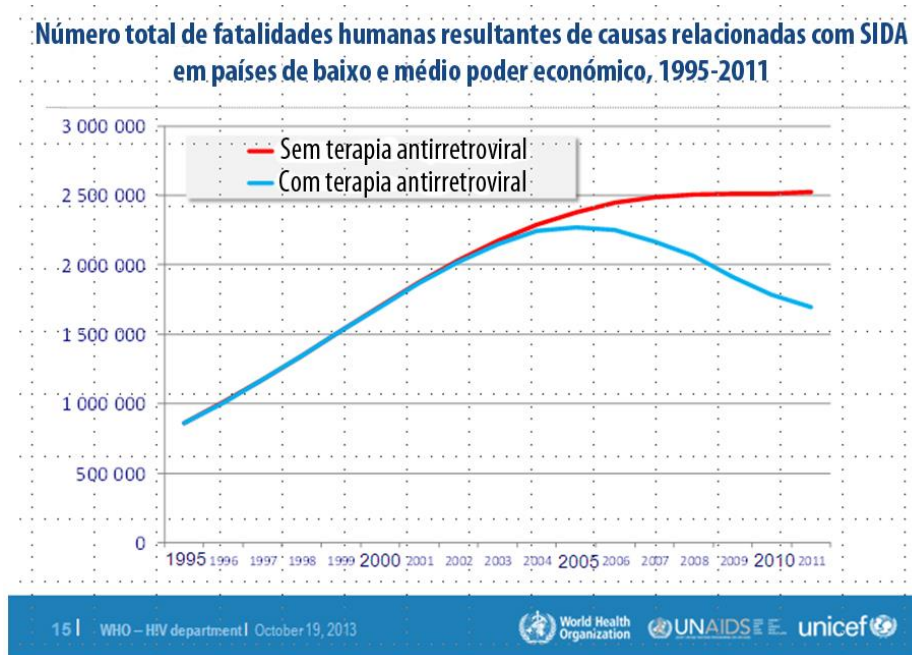
A HAART começou a ser aplicada há cerca de duas décadas atrás e pretende, através da combinação de múltiplos antirretrovirais de diferentes classes minimizar as hipóteses de falha virológica através do aparecimento de mutações “de fuga”.

O protocolo da HAART recomenda que o tratamento inicial dos pacientes com infeção pelo HIV-1 conste da utilização de um inibidor da protease (PI) reforçado por ritonavir (outro PI) junto com outros antirretrovirais (Mishra & Shrivastav, 2014).

Ambos os regimes baseados quer em NNRTIs ou em PIs resultam na supressão dos níveis de RNA do HIV e no aumento dos números das células T-CD4+ na larga maioria dos pacientes (Haas *et al.*, 2011). Segundo Mishra & Shrivastav (2014), devido ao rápido surgimento de resistências aos NNRTIs, o uso de PIs tem aumentado no tratamento da infeção pelo HIV.

##### 4.4.2.1. Sucesso da HAART

A figura 5 mostra como a HAART reduziu drasticamente o número de mortes relacionadas com o HIV em países de 2º e 3º Mundo.



**Figura 5 - Número total de mortes relacionadas com o HIV em países de 2º e 3º Mundo desde 1995 até 2011 (WHO, 2013).**

Como já foi dito anteriormente, é amplamente reconhecido que todas as classes de antirretrovirais têm mais efeitos além da supressão da replicação do HIV. Nenhum dos estudos clínicos dos muitos tratamentos antirretrovirais realizados, mostraram 100% de resposta em termos quer do controlo da replicação viral quer da recuperação das células CD4+ (Jiménez-Nácher *et al.*, 2008; Parathyras *et al.*, 2009). Uma significativa fração dos pacientes apresenta perda imunológica, virológica ou benefícios clínicos dos atuais regimes, enquanto que outros sofrem efeitos secundários adversos, tais como respostas virológicas sub-ótimas, toxicidade e/ou resistência aos fármacos (Parathyras *et al.*, 2009, Haas *et al.*, 2011).

Os fatores que determinam esta variabilidade inter-individual incluem idade, sexo, etnia, índice de massa corporal, medicação concomitante (incluindo preparações ervanárias), alimentação e co-morbilidade. Crê-se que variações genéticas são responsáveis por 20 a 95% desta variabilidade (Telenti & Zanger, 2008; Haas *et al.*, 2011). Por exemplo, as complicações associadas com a terapia antirretroviral, incluindo hepatotoxicidade, pancreatite ou dislipidémia foram relatadas mais frequentemente em mulheres do que em homens (Shiau *et al.*, 2014). Mais especificamente, as variações na eficácia do fármaco antirretroviral e a ocorrência de efeitos secundários adversos, são influenciados por variantes nos genes

responsáveis pelo metabolismo e transporte dos fármacos, codificadas na sequência de DNA do indivíduo (Parathyras *et al.*, 2009).

Cerca 50% dos pacientes em HAART descontinuem o seus tratamentos antirretrovirais devido a reações adversas aos fármacos ou falha virológica (Anderson *et al.*, 2006). Outros autores colocam este número entre os 20-30% no que se refere à HAART em países como o Reino Unido e Estados Unidos, especificando ainda que 10% destes exibem falha virológica enquanto que os outros 90% devem-se apenas à toxicidade (Owen, 2006; Owen & Khoo, 2008). A sempre crescente população de infetados pelo HIV, consiste em indivíduos étnicamente diversos, em regimes antirretrovirais complexos, de longa duração e potencialmente tóxicos (Mahungu *et al.*, 2009). Isto torna as possibilidades de falha terapêutica, em indivíduos que iniciam o tratamento pela primeira vez, elevadas. O falhanço do tratamento é custoso, não só em termos de morbidade do paciente, mas também financeiramente, uma vez que o tratamento fica cada vez mais dispendioso com os falhanços sucessivos (Owen & Khoo, 2008). O Reino Unido calcula que as reações adversas aos fármacos custem mais de £270 milhões por ano (Pepper, 2005). Melhores terapias com menos efeitos secundários e uma minimizada resistência aos fármacos, pode ser atingida através de uma maior compreensão das influências genéticas nas respostas farmacológicas na terapia antirretroviral (Parathyras *et al.*, 2009). Estes indivíduos beneficiariam grandemente de testes preditivos que identificassem os regimes de maior durabilidade. Esta aplicação individualizada da terapia farmacológica é prometida pela farmacogenética (Mancinelli *et al.*, 2000).

## **5. Farmacogenética aplicada ao HIV**

Apesar da presença de um crescente número de pesquisas relacionadas com a farmacogenética da terapia antirretroviral, existem numerosas barreiras à aplicação direta deste conhecimento que traria uma verdadeira terapia antirretroviral individualizada à prática clínica. A falta de resultados consistentes nas associações genótipo-fenótipo, a falta de provas que apoiem a generalização a diversas populações e a influência de fatores poligénicos têm sido obstáculos consideráveis neste processo (Phillips & Mallal, 2008).

## 5.1. Determinantes genéticos da eficácia e toxicidade da HAART

### 5.1.1. SNPs: Fonte de variabilidade

Na farmacogenética, as mais estudadas e comuns variantes genéticas são os SNPs em genes envolvidos no transporte, metabolismo e toxicidade dos fármacos.

Por definição, SNPs são mutações pontuais que ocorrem num alelo e que possuem a frequência de pelo menos 1% na população mundial (PHG Foundation, s.d.).

Os SNPs podem ser o resultado de uma transição, em que uma purina substitui uma purina (A ou G) ou uma pirimidina substitui uma pirimidina (C ou T), ou de uma transversão, em que existe uma troca entre purina e pirimidina, ou ainda uma pequena inserção ou deleção (indel) (Mmeko *et al.*, 2013). Existe uma marcada tendência étnica para a probabilidade da existência de determinados SNPs (Indolfi *et al.*, 2014). Assim, estudos recentes, têm utilizado a estratificação étnica como um importante método de análise da relação genótipo-fenótipo (Skafidas *et al.*, 2012).

Os SNPs são denominados de “sinónimos” se ambos os genes alelos resultarem na expressão de sequências polipépticas semelhantes (denominados também como “mutações silenciosas”) e “não sinónimos” se as cadeias polipépticas produzidas forem diferentes (DNAbaser, s.d.).

A sequenciação do genoma humano já identificou, aproximadamente, 187.000.000 de SNPs que se pensa corresponderem a 90% de toda a variação genómica nos humanos. Estes SNPs representam um amplo recurso genético, ainda maioritariamente inexplorado, que pode ser utilizado para a compreensão da suscetibilidade de um indivíduo a complexas doenças genéticas, tais como, o cancro, obesidade ou diabetes, e de onde importante informação médica pode ser recolhida (Crowley *et al.*, 2014).

### 5.1.2. SNPs e a previsibilidade da resposta antirretroviral

De igual forma, um grande número de associações têm sido relatadas entre estes polimorfismos genéticos do hospedeiro e a resposta aos fármacos antirretrovirais. As diferentes respostas incluem: a farmacocinética e a farmacodinâmica da terapia, síndromes de hipersensibilidade, hepatotoxicidade, efeitos secundários ao nível do sistema nervoso central,

hiperbilirrubinemia, neuropatia periférica, lipodistrofia, hiperlipidemia, pancreatite e toxicidade renal (Montessori *et al.*, 2004; Tozzi, 2010).

Existe uma tendência étnica em relação à probabilidade de se possuírem determinados variantes alélicos. Estudos neste sentido resultaram na identificação de 100.736 SNPs que surgiram unicamente associados a cada grupo étnico. Destes, 1.009 foram identificados em genes associados a doenças e 85 preditos como causadores de dano. Assim a importância da estratificação étnica nas análises genótipo-fenótipo não pode deixar de ser realçada (Park *et al.*, 2007).

#### 5.1.3. Tendência étnica para o aparecimento de determinados SNPs

Parathyras *et al.* (2009) realizaram um estudo na República da África do Sul, destinado a testar a hipótese de uma “tendência étnica” apresentada por diversos autores como: Wegner *et al.*, Pfister *et al.* e Kappelhoff *et al.* Estes três últimos relataram uma diferença estatisticamente significativa do efeito da etnia do paciente na resposta à terapia antirretroviral. No seu estudo, Parathyras *et al.* (2009) utilizaram um universo de 182 pacientes de etnia Xhosa e ancestralidade mista e não detetaram qualquer efeito discernível da etnia dos pacientes na resposta imune à terapia antirretroviral. Os próprios avançam com algumas possíveis explicações para esta contradição incluindo um maior grau de semelhança genética entre as etnias mistas e as populações Xhosa (oriundas da zona Este da África do Sul), bem como o limitado número de pacientes utilizados no estudo.

#### 5.1.4. SNPs, sequenciação genética e haplótipos.

Como já visto anteriormente, a definição de um SNP coloca-o como uma mutação genética comum a pelo menos 1% da população mundial. Devido à sua natureza “mais usual”, a sequenciação genética e o mapeamento dos SNPs levou à denominação de diversos haplótipos contendo, muitos deles, múltiplos SNPs em associações comuns e, muitas vezes, representativos de determinadas etnias, populações ou regiões do globo.

As análises aos SNPs, anteriormente, recaíam sobre uma abordagem direta, de confirmação de uma hipótese, onde existe uma ligação plausível entre uma variação pontual num gene e o fenótipo em estudo. Isto era estudado dentro de uma família e depois procurado noutras cujos membros exibissem o mesmo fenótipo. Hoje em dia, o mapeamento dos SNPs

tem sido realizado dentro de um grande consortium internacional, o Projeto de Mapeamento de Haplótipos (HapMap) – um catálogo de variações genéticas comuns do genoma humano, descrevendo o tipo e a localização da variação, juntamente com a sua distribuição entre as diferentes populações (Koeleman *et al.*, 2013). A existência deste projeto, com a possibilidade de se conduzirem análises que abrangem o genoma, permite uma mudança de paradigma (Telenti & Zanger, 2008). Isto leva a análises mais completas e abrangentes do genoma como um todo em vez de se analisarem hipóteses individuais podendo levar a relações genótipo-fenótipo e descobertas não antecipadas.

Tem-se, em seguida, a tabela 2 que denomina os SNPs presentes ao longo desta tese e seus respectivos alelos.

**Tabela 2 – Localização alélica e cromossomal dos SNPs do citocromo P450 relevantes (compilado de: The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee, s.d.; Yale University, 2014)**

SNP	Alelos onde se encontra	Localização
CYP2B6 136 A>G	CYP 2B6*11A, CYP 2B6*11B,	19q13.2
CYP2B6 296 G>A	CYP 2B6*12	19q13.2
CYP2B6 415 A>G	CYP 2B6*8, CYP 2B6*13A, CYP 2B6*13B	19q13.2
CYP2B6 419 G>A	CYP 2B6*14	19q13.2
CYP2B6 516 G>T	CYP 2B6*6A, CYP 2B6*6B, CYP 2B6*6C, CYP 2B6*7A, CYP 2B6*7B, CYP 2B6*9, CYP 2B6*13A, CYP 2B6*13B, CYP 2B6*19, CYP 2B6*20, CYP 2B6*26, CYP 2B6*29, CYP 2B6*34, CYP 2B6*36, CYP 2B6*37, CYP 2B6*38	19q13.2
CYP2B6 785 A>G	CYP 2B6*4A, CYP 2B6*4B, CYP 2B6*4C, CYP 2B6*4D, CYP 2B6*6A, CYP 2B6*6B, CYP 2B6*6C, CYP 2B6*7A, CYP 2B6*7B, CYP 2B6*13A, CYP 2B6*13B, CYP 2B6*16, CYP 2B6*19, CYP 2B6*20, CYP 2B6*26, CYP 2B6*34, CYP 2B6*36, CYP 2B6*37, CYP 2B6*38	19q13.2
CYP2B6 983 T>C	CYP 2B6*16, CYP 2B6*18	19q13.2
CYP2B6 1172 T>A	CYP 2B6*15A, CYP 2B6*15B	19q13.2
CYP3A4 -392 A>G	CYP 3A4*1B, CYP 3A4*15B, CYP 3A4*23, CYP 3A4*24	7q21.1
CYP3A5 6986 A>G	CYP 3A5*3A, CYP 3A5*3B, CYP 3A5*3C, CYP 3A5*3D, CYP 3A5*3E, CYP 3A5*3F, CYP 3A5*3G, CYP 3A5*3H, CYP 3A5*3I, CYP 3A5*3J, CYP 3A5*3K, CYP 3A5*3L	7q21.1

Como pode ser facilmente confirmado pela tabela 2, existem múltiplas ocorrências de um mesmo SNP por diversos alelos e o mesmo alelo pode conter múltiplos SNPs formando os haplótipos. Assim, enquanto que a organização e classificação de SNPs em determinados haplótipos para o estudo das populações oriundas das diversas regiões do globo seja de extraordinária importância, a característica relevante para as implicações farmacocinéticas e farmacodinâmicas em estudo é o SNP propriamente dito e, é sobre este que irá cair o principal focus das discussões apresentadas durante o curso deste trabalho.

Com o propósito de nos afastarmos de uma “genética estatística” e, pelo contrário, centrarmos-nos mais numa abordagem aplicada ao indivíduo, a grande parte desta revisão literária será dedicada aos SNPs que influenciam a farmacocinética e farmacodinâmica dos antirretrovirais e não aos mais abrangentes haplótipos em que múltiplos SNPs estarão incluídos. Naturalmente, não descuraremos a importância do haplótipo e, sempre que relevante, este será referido.

#### 5.1.5. Principais proteínas envolvidas na farmacocinética e farmacodinâmica dos antirretrovirais

A biotransformação de substâncias exógenas (xenobióticos), incluindo fármacos, encontra-se dividida em fase I e fase II. As reações de fase I incluem a transformação do pró-fármaco em metabolitos mais polares através de reações de oxidação, redução, hidrólise e desaminação. As principais enzimas desta fase são os citocromos P450 (CYPs) que fazem principalmente hidroxilações e assim atuam como mono-oxigenases, dioxigenases e hidrolases. As enzimas de fase II desempenham um papel importante na biotransformação de compostos endógenos e xenobióticos para formas mais facilmente excretáveis, bem como na inativação metabólica de substâncias farmacologicamente ativas. O propósito da biotransformação da fase II é fazer reações de conjugação. Estas incluem glucoronidação, metilação, acetilação e conjugação de aminoácidos, entre outras. De uma forma geral, os respetivos conjugados são mais hidrofílicos que as substâncias originais (Nelson, 2009; Jancova *et al.*, 2010; Brunton *et al.*, 2011).

As proteínas de ação celular são responsáveis pela modulação da resposta celular ao fármaco ou metabolito, e estão envolvidas no afluxo e na ação intracelular do composto.

**Tabela 3 - Classificação das principais proteínas envolvidas no metabolismo dos ARVs, como pertencentes a enzimas da fase I, fase II ou de ação celular**

Proteínas	
<b>Enzimas de Fase I</b>	Citocromo P450 (CYP450)
<b>Enzimas de Fase II</b>	UDP-Glucuroniltransferases (UGTs)
<b>Proteínas de ação celular</b>	Proteínas multi-fármaco resistentes (MDRPs)
	Glicoproteína-P (P-gp)
	Proteínas transportadoras de aniões orgânicos (OATP)
	Apolipoproteínas (APOs)
	Proteínas do complexo HLA

Naturalmente a farmacocinética e farmacodinâmica dos antirretrovirais são parcialmente dependentes das enzimas de fase I, fase II e de ação celular. A importância do estudo dos SNPs em relação à terapia antirretroviral é facilmente percebida quando da realização de que, sendo uma fonte de variabilidade na alteração do comportamento das proteínas que codificam, tornam-se, conseqüentemente, numa fonte de imprevisibilidade do comportamento farmacocinético e farmacodinâmico de um antirretroviral que depende dessas proteínas para a sua ação.

Antes de serem discutidos mais concretamente alguns dos mais importantes SNPs dessas proteínas e de como influenciam a terapêutica antirretroviral, faz-se, primeiramente, uma breve descrição destas e do seu papel no organismo humano, sem esquecer algumas variações genéticas que lançam o mote para a posterior discussão das diferenças inter-individuais da eficácia e toxicidade da terapia antirretroviral.

#### 5.1.5.1. Citocromo P450 (CYP450)

O Citocromo P450 (CYP450) são uma superfamília de enzimas, todas elas contendo uma molécula de heme não-covalentemente ligada a uma cadeia polipeptídica. O heme, também parte integrante da hemoglobina onde tem a função de ligar o oxigênio para transporte entre os pulmões e os tecidos, contém um íon de ferro que tem como função ligar o oxigênio ao centro ativo CYP como parte do ciclo catalítico destas enzimas. CYPs utilizam o O<sub>2</sub> em conjunto com H<sup>+</sup> para levarem a cabo a oxidação dos substratos. O metabolismo de um substrato por um CYP consome uma molécula de oxigênio e produz um substrato oxidado e uma molécula de água como subproduto. Foram já identificados nos humanos 57 genes funcionais estando agrupados de acordo com as semelhanças de sequências aminoacídicas em 18 famílias e 44 subfamílias. Como uma superfamília de enzimas, os CYPs estão envolvidos no metabolismo de elementos químicos da dieta e xenobióticos, bem como a síntese de compostos endógenos, como colesterol, esteróides e outros lípidos importantes tais como as prostaciclina e o tromboxano A<sub>2</sub> (Nelson, 2009; Brunton *et al.*, 2011).

Os CYPs são batizados com a raiz CYP seguida pelo número que designa a família e uma letra que denota a subfamília, seguido de um outro número que designa a forma do CYP. Assim, CYP3A4 pertence à família 3, subfamília A e gene número 4. Nos humanos, 12 CYPs (CYP1A1, 1A2, 1B1, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4, and 3A5) são conhecidos como sendo importantes para o metabolismo da maioria dos xenobióticos. No âmbito deste

estudo, os mais relevantes são os 2B6, 3A4 e 3A5. O fígado contém a maior abundância de CYPs metabolizadores de xenobióticos, garantindo assim um eficiente metabolismo de primeira passagem dos fármacos. CYPs são também expressos pelo trato gastro-intestinal e, em menores quantidades, no pulmão, rim e até no sistema nervoso central (Brunton *et al.*, 2011).

São ainda responsáveis pelo metabolismo oxidativo de um grande número de fármacos. São encontradas nos diversos grupos étnicos, diferenças no funcionamento dessas enzimas levando a variabilidade na farmacocinética e na resposta terapêutica (Nogueira *et al.*, 2006).

Mutações nos genes do citocromo P450 ou deficiências das enzimas são responsáveis por diversas doenças humanas e a indução de alguns P450s (pelo fumo do tabaco, por exemplo), é um fator de risco de diversos cânceros, uma vez que estas enzimas podem converter procarcinogénios em carcinogénios (Nelson, 2009).

#### 5.1.5.1.1. CYP450 como metabolizador de antirretrovirais

O complexo enzimático do citocromo P450 (CYP450) é o principal metabolizador dos Inibidores Não-Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NNRTIs), Inibidores da Protease (PI) e do único antagonista CCR5 licenciado (Okulicz *et al.*, 2011). Eyakem (2013) do Departamento de Farmacologia Clínica, do Instituto de Karolinka de Estocolmo, observou que polimorfismos nas diversas isoenzimas CYP450 irão ser responsáveis por uma mudança no metabolismo destes fármacos causando um aumento ou diminuição da clearance com consequente diminuição ou aumento da concentração plasmática.

#### 5.1.5.2. Proteínas “multi-drug resistant” (MRPs)

As proteínas “multi-drug resistant” (MRP) ganharam a sua qualificação pela primeira vez em 1992 quando Susan Cole e Roger Deeley clonaram o gene hoje conhecido como MRP1. Até 1998 foram identificados mais seis membros desta família, MRP 2-7, todos eles demonstrados como conferindo resistência a fármacos. Estas proteínas pertencem à superfamília das “ATP-binding cassette” (ABC) sendo proteínas da membrana celular e encontrando-se amplamente distribuídas no organismo (Borst *et al.*, 1999; Galante *et al.*, 2014).

A superfamília ABC, é uma família de proteínas membranares de transporte que requer hidrólise de ATP para o transporte de substratos através das membranas. O nome deriva do domínio ligante do ATP encontrado na proteína. As proteínas MDR, embora na sua maioria sejam considerados transportadores de aniões orgânicos, existe todo um subgrupo destas que confere resistência a fármacos orgânicos neutros (National Library of Medicine, s.d.). A sua função é funcionarem como bombas de efluxo, fazendo o transporte de substâncias presentes no interior da célula para fora desta (Li & Nikaido, 2010)

A proteína “multi-drug resistant” 4 (MRP4) confere resistência aos fármacos análogos de nucleosídeos e promove o efluxo de nucleótidos cíclicos como os AMPc e GMPc (Copsel *et al.*, 2011).

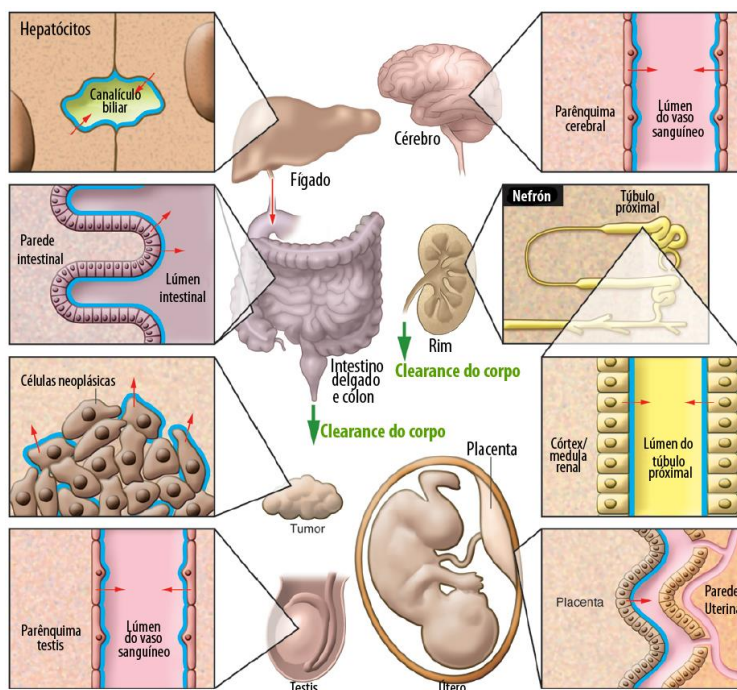
Da mesma forma, a proteína relacionada com o cancro da mama (BCRP), é tida como tendo um papel chave no desenvolvimento de resistência a múltiplos fármacos ao promoverem a extrusão de um amplo leque de fármacos, resultando num reduzido acesso destes aos seus locais alvo, tornando-os ineficazes (Galante *et al.*, 2014)

São as proteínas “multi-drug resistant” (MRP), reconhecidas como desempenhando um papel no efluxo celular de fármacos análogos de nucleosídeos tais como os NRTIs (Varatharajan & Thomas, 2009). Assim sendo, variações genéticas na MRP4 e MRP2 têm sido estudadas pela sua associação com os níveis intracelulares de alguns NRTIs (Anderson *et al.*, 2006). No metabolismo dos NRTIs, ao contrário dos Inibidores Não-Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NNRTIs) e dos Inibidores da Protease (PIs), existe muito pouco envolvimento das enzimas do citocromo P450 (CYP450) (Svärd *et al.*, 2010; Eyakem, 2013).

#### 5.1.5.3. Glicoproteína-P (P-gp)

A glicoproteína-P (P-gp), é uma proteína de ação celular codificada pelo gene “multi-drug resistant” ABCB1, também conhecido por MDR1, localizado no cromossoma 7 em 7q21.1, e é um transportador transmembranar de efluxo que contribui para a disposição de uma larga variedade de fármacos de diferentes categorias terapêuticas devido à sua extensa distribuição e ampla especificidade de substratos. Uma das suas funções principais é proteger os tecidos contra toxinas endógenas e exógenas ao expulsar estes compostos de dentro das células, resultando numa menor concentração intra-celular de fármacos. A glicoproteína-P, é o maior transportador de efluxo na barreira hemato-encefálica, e que limita a entrada no

sistema nervoso central de um largo número de fármacos, contribuindo, provavelmente, para a variabilidade na resposta farmacoterapêutica do SNC (Marcoux *et al.*, 2013; Mukonzo *et al.*, 2013; Noack *et al.*, 2014; Yale University, 2014). Embora similares na função às MDR, as P-gp têm muito pouco em comum da sequência com as MDR (National Library of Medicine, s.d.).



**Figura 6 – Vista geral da expressão funcional do ABCB1 pelo corpo. As linhas azuis indicam a localização do ABCB1. As setas vermelhas indicam a direção do transporte mediado pelo ABCB1. As setas verdes representam a excreção do corpo dos substratos da ABCB1 (adaptado de Borst & Schinkel, 2013).**

Como pode ser visto na figura 6, além da barreira hemato-encefálica, outros locais de expressão da P-gp são a superfície luminal dos capilares endoteliais, o lúmen gastrointestinal, a membrana biliar dos hepatócitos, os túbulos proximais do rim, a placenta. Assim, os substratos são ativamente excretados para: bÍlis, urina e fezes.

A sobre-expressão da P-gp na membrana das células é o mecanismo mais comum de resistência a fármacos quando estas são tratadas com agentes citotóxicos, tais como antirretrovirais (Loo & Clarke, 2014). Os Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa como são análogos de nucleosídeos vão estar sujeitos à ação de efluxo da glicoproteína-P. Assim uma sobre-expressão desta na membrana celular vai retirar o fármaco de dentro para fora da célula reduzindo efetivamente a sua eficácia (Anderson *et al.*, 2006; Varatharajan & Thomas, 2009). Da mesma forma, a expressão da P-gp nos diversos tecidos vistos

anteriormente, pode influenciar a disposição dos antirretrovirais nestes, definindo não só a sua biodisponibilidade, mas também a sua distribuição aos “santuários virais” (North *et al.*, 2010).

#### 5.1.5.4. Organic Anion Transporter Proteín (OATP)

Os polipeptídeos transportadores de aniões orgânicos (OATP), são proteínas de ação celular que pertencem à família de genes transportadores de aniões/prostaglandina orgânicos e que medeiam o transporte membranar, independente do sódio, de numerosos compostos anfipáticos endógenos e exógenos (xenobióticos). Diversos membros foram já identificados nos tecidos humanos e foram classificados como pertencentes à superfamília de genes transportadores de solutos (SLC), como a família genética “SLC21A”. A primeira proteína OATP a ser identificada, hoje denominada OATP-A, foi originalmente isolada no fígado humano, mas é predominantemente expressa na barreira hemato-encefálica, nas células dos capilares endoteliais do cérebro (Kullak-Ublick *et al.*, 2001).

O OATP-C, codificado pelo gene SLC21A6 é um transportador específico do fígado envolvido no “uptake” hepatocelular de uma variedade de substâncias endógenas e exógenas. Esta proteína é também conhecida como “transportador de aniões orgânicos específico do fígado 1” (LST-1) ou OATP2 e transporta substâncias como a prostaglandina E2, hormona da tiróide e a bilirrubina e os seus glucoronídeos conjugados, entre outras (Tirona *et al.*, 2001). A localização do OATP-C é quase exclusivamente a membrana do hepatócito, onde foi também encontrado o OATP8, que é 80% igual ao OATP-C. Mais recentemente foram feitas 3 adições à família OATP humana. Todos eles medeiam o “uptake” do substrato estrona-3-sulfato. Foram denominados como OATP-B (*SLC21A9*), OATP-D (*SLC21A11*) e OATP-E (*SLC21A12*). Análises PCR demonstraram que estas 3 proteínas são expressas numa ampla variedade de tecidos. A OATP-B é expressa em elevada quantidade na membrana basolateral dos hepatócitos humanos e após a OATP-C e a OATP8, é a terceira proteína com maior afinidade para o “uptake” no fígado humano, do BSP, um anião orgânico principalmente excretado na bÍlis e secretado de forma negligenciável pelo rim em condições não-patológicas (Kullak-Ublick *et al.*, 2001; Brandoni & Torres, 2009).

A OATP-B, segundo os mesmos autores acima citados, exhibe uma limitada especificidade para substratos e não transporta sais biliare. As proteínas OATP-A, OATP-C e OATP8 demonstram atividades transportadoras sobrepostas para sais biliare e numerosos

aniões orgânicos, incluindo aniões peptídeos. A OATP-A é a única que faz o transporte do catião orgânico N-metil quinina, enquanto que a OATP8 medeia o transporte seletivo de glicosídeos cardíacos e assim representa o sistema de “uptake” hepatocelular para a digoxina no fígado.

#### 5.1.5.5. Apolipoproteínas

As apolipoproteínas, são proteínas de ação celular, que desempenham um papel chave em diversas fases e locais do organismo, estando diretamente relacionadas com a formação, transporte e metabolismo dos lípidos. São instrumentais na defesa e prevenção de doenças graves como doença coronária ou doença de Alzheimer. São discutidas de seguida, um pouco mais pormenorizadamente.

##### 5.1.5.5.1. APOA1, APOC3, APOA4 e APOA5

A ApoA1 é uma proteína com 28 KDa de peso molecular, sintetizada no fígado e no intestino delgado. Tem um papel chave na formação, metabolismo e catabolismo da HDL, uma lipoproteína plasmática cujos níveis estão bastante relacionados com a proteção contra o desenvolvimento de doença coronária, mesmo em pacientes com níveis muito baixos de colesterol LDL (Thomas *et al.*, 2008).

Polimorfismos nos genes das APOA1/C3/A4/A5 têm sido associadas com alterações dos lípidos e doenças cardiovasculares (Furuya *et al.*, 2013). Níveis elevados do colesterol total, colesterol de baixa densidade (LDL-c) e triglicéridos, assim como níveis baixos de colesterol de alta densidade (HDL-c) são fatores de risco determinantes para as doenças cardiovasculares (Hamon *et al.*, 2006; Andrade *et al.*, 2010; Romero *et al.*, 2013). Em 2009 fizeram-se três estudos, citados por Furuya *et al.* (2013), que descreveram novos loci associados aos níveis séricos de lípidos, incluindo o grupo de genes APOA1/C3/A4/A5, localizado em 11q23-q24. A APOA1 é o principal componente do HDL-c e uma proporção inversa entre estes e o risco para arterosclerose prematura já foi relatado. A APOA5 é uma outra apolipoproteína e que já foi relatada como sendo um importante regulador dos níveis de triglicéridos. Polimorfismos nos genes das APOA1 e APOA5 estão associados a alterações lipídicas e doença cardiovascular (Furuya *et al.*, 2013; Yale University, 2014).

Um estudo citado por Telenti & Zanger (2008) notou que SNPs na apolipoproteína A5 (apoA5, haplotipos não-\*1/\*1), na proteína transportadora ABCA1 (ABCA1, 2962A>G, localizado no cromossoma 9 na posição 9q31.1 – segundo Yale University, 2014) e na colesteroester transferase (CETP, 279G>A, localizado na posição 16q13 – conforme Yale University, 2014) foram também associadas a aumentos significativos nos triglicéridos plasmáticos.

Os níveis de apolipoproteína C3 (apoC3), por outro lado, apresentam uma correlação com a hipertrigliceridémia segundo Mallon (2006), e um número de estudos na população geral implicaram os polimorfismos comuns da apoC3 (-482C>T, -455T>C, 3238C>G) com um aumento do risco desta (Arnedo *et al.*, 2007; Rocco *et al.*, 2012).

#### 5.1.5.5.2. ApoE

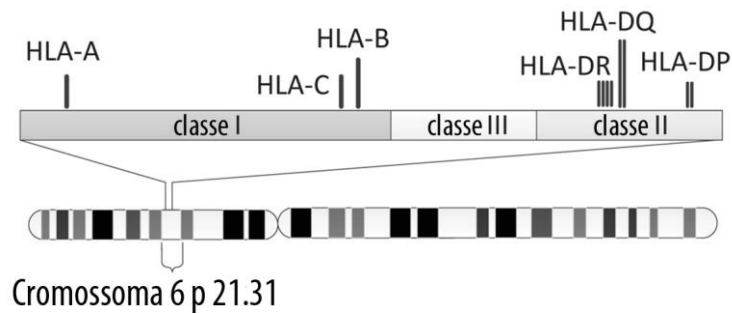
A apolipoproteína humana E (ApoE) desempenha um papel importante na homeostase dos lípidos na circulação e no cérebro. A apoE é uma glicoproteína, de ação celular, com 299 resíduos aminoácidos e que possui três isoformas comuns (ApoE2, ApoE3 e ApoE4) na população geral sendo a ApoE3 a isoforma mais frequente. A isoforma ApoE2 está associada a uma forma recessiva de hiperlipoproteinémia tipo III e a ApoE4 é um fator de risco significativo de doença coronária e o surgimento tardio da doença de Alzheimer (Georgiadou *et al.*, 2014). Assim podemos constatar a existência de duas isoformas desfavoráveis para a ApoE: a ApoE2 e a ApoE4.

Thomas B. Shea *et al.*, no seu estudo de 2002 testaram a hipótese e demonstraram que deficiências na função da ApoE estão associadas a um aumento no stress oxidativo no SNC.

#### 5.1.5.6. Sistema HLA (Reações de Hipersensibilidade)

O antigénio leucocitário humano (HLA) faz parte do Complexo de Histocompatibilidade Major (MHC) sendo também designado desta forma nos outros vertebrados (Prugnolle *et al.*, 2005). Este super-locus HLA, localizado no cromossoma 6 possui níveis extremamente elevados de densidade e variabilidade génica, contendo cerca de 0,5% de todos os, aproximadamente 32000, genes codificantes de proteínas conhecidos e em que cada um destes genes HLA possui mais de uma dúzia de alelos diferentes (Shiina *et al.*, 2009; Delves, 2013). Os genes HLA desempenham um papel importante no sistema imunitário e codificam

um grupo de proteínas relacionadas entre si conhecidas como “o complexo HLA” (Xie *et al.*, 2010).



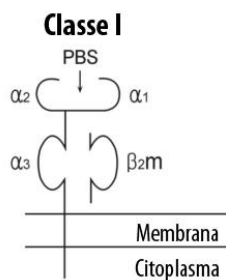
**Figura 7 - Localizações das diversas classes do MHC no cromossoma 6 (adaptado de Xie *et al.*, 2010)**

A região HLA encontra-se dividida em duas regiões clássicas denominadas classe I e classe II e uma região intermédia denominada classe III, tal como ilustrado na figura 7. Os genes clássicos HLA-A, HLA-B e HLA-C pertencem à classe I e os genes clássicos HLA-DP, HLA-DQ e HLA-DR encontram-se na classe II (Genetics Home Reference, 2009; da Silva *et al.*, 2013).

Os genes do HLA sendo altamente polimórficos produzem um complexo HLA hiper-variável, através do qual o sistema imunitário diferencia as células “do eu” das células “não eu”. Diferenças entre os genes HLA de um doador de um órgão e o seu receptor normalmente resultam em reações de rejeição e causam a falha do transplante. A natureza desta diversidade genética da região HLA é complexa e tem sido um alvo frequente de investigação da genómica humana. Numerosos investigadores já ilustraram que diferentes alelos dos genes HLA estão associados a muitas doenças inflamatórias, infecciosas ou autoimunes (Xie *et al.*, 2010).

Uma “seleção de balanceamento mediada por patógenos” foi já hipotetizada para explicar o fantástico polimorfismo do complexo HLA. Embora não exista ainda um apoio direto a esta hipótese, tem sido demonstrado uma correlação positiva entre a variação nos genes HLA classe I e a riqueza patogénica dos locais onde as populações estudadas habitam, notavelmente para o gene HLA-B. A variabilidade do gene HLA-B é maior que os genes HLA-A e HLA-C. Isto parece estar em concordância com estudos genéticos e imunológicos que sugerem o HLA-B como o gene sob uma maior pressão seletiva dos patógenos (Prugnotte *et al.*, 2005).

#### 5.1.5.6.1. Moléculas da classe I



**Figura 8 - Diagrama esquemático da molécula HLA classe I (Choo, 2007)**

As moléculas da classe I consistem de cadeias pesadas glicosiladas codificadas pelos genes da classe I e uma  $\beta_2$ -microglobulina ( $\beta_2m$ ) extracelular ligada não-covalentemente. A  $\beta_2m$  é estável e o seu gene foi mapeado no cromossoma 15. A cadeia pesada da classe I possui 3 domínios extracelulares ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ , e  $\alpha_3$ ), uma região transmembranar e um domínio intracitoplasmático. Os domínios  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  contêm sequências de aminoácidos variáveis e estes domínios determinam as especificidades antigênicas das moléculas da classe I do HLA. O  $\alpha_3$  e a  $\beta_2m$  formam ambos domínios estáveis. Os domínios  $\alpha_1$  e  $\alpha_2$  da cadeia pesada formam uma estrutura única que consiste de uma plataforma de oito folhas  $\beta$  antiparalelas e duas  $\alpha$ -hélices antiparalelas no topo desta plataforma. Uma reentrância (“Peptide Binding Site” – PBS) é formada pelas duas  $\alpha$ -hélices providenciando assim o local de ligação para o péptido antigêneo processado. Esta PBS acomoda um péptido de 8 a 10 resíduos aminoácidos (Choo, 2007).

A cadeia pesada das moléculas classe I é codificada pelos genes nos loci HLA-A, HLA-B e HLA-C, possuindo aproximadamente 45kDa de peso molecular e contendo 8 exões. Com especial relevância temos os exões 2 e 3 que codificam para os domínios alfa 1 e alfa 2, repetivamente, e que ambos ligam o péptido. Polimorfismos nestes exões são responsáveis pela especificidade na ligação ao péptido de cada molécula da classe I. A identificação destes polimorfismos é rotineiramente feita aquando da realização de transplantes renais ou de medula óssea (Genetics Home Reference, 2009).

As glicoproteínas da classe I ligam-se a fragmentos de peptídeos, derivados do lúmen do retículo endoplasmático das células, viajam para a superfície e apresentam esses péptidos aos linfócitos T CD8+. Este receptor liga-se à zona não polimórfica da cadeia pesada e são capazes de reconhecer antigêneos sintetizados no interior da célula alvo (celulares,

transformados ou proteínas induzidas por vírus). Cerca de 10-30% dos linfócitos da circulação periférica são denominados células “Natural Killer” (NK). Esta subclasse de linfócitos não possuem o receptor de célula T e exercem citotoxicidade. As células NK são capazes de reconhecer e distinguir as proteínas “eu” e “não-eu” e induzir a destruição celular de algumas células tumorais e células viralmente infectadas. Alguns genes da classe I codificam moléculas MHC não clássicas, como a HLA-G, que aparenta desempenhar um papel na proteção do feto da resposta imune materna (Parham *et al.*, 1988; Turnquist *et al.*, 2000; Choo, 2007; Delves, 2013).

Os HLA-A, HLA-B e HLA-C são moléculas da classe I e, dentro das moléculas do HLA, são as que possuem maior relevância clínica, nomeadamente o HLA-B, no que toca a reações de hipersensibilidade causadas por antirretrovirais. O HLA-B codifica para muitas possíveis variações, permitindo ao sistema imunitário de cada indivíduo reagir a uma ampla variedade de invasores. São conhecidas centenas de alelos deste gene e a cada um é dado um número específico tais como HLA-B\*5701. Alelos relacionados são categorizados juntos. Por exemplo, existem 63 alelos similares que são subtipos do HLA-B27. Estes subtipos são designados por HLA-B\*2701 ao HLA-B\*2763 (Genetics Home Reference, s.d.).

Cada alelo HLA-B possui um de dois, mutuamente exclusivos, epítomos serológicos conhecidos como Bw4 e Bw6. O Bw6 está presente em aproximadamente 2/3 dos alelos HLA-B, enquanto que o restante 1/3 possui o alelo Bw4. Originalmente pensados como definindo dois antígenos HLA-B, são hoje reconhecidos como representando determinantes partilhados de uma muito mais ampla família de alelos polimórficos, conhecidos como “epítomos públicos”. O Bw6 é apenas encontrado nos alelos HLA-B, enquanto que o Bw4 é encontrado em ambos os alelos HLA-B e HLA-A (Gumperz *et al.*, 1995).

Foi observado que os antígenos HLA-C desempenham um papel na governação da lise das células “Natural Killer” (NK) onde, aparentemente, a expressão de moléculas HLA-C exerce um efeito inibitório dominante sobre a lise das células alvo das NK (Gumperz *et al.*, 1995).

É amplamente reconhecida a associação entre alguns haplótipos HLA, como o HLA-A1 ou o HLA-B8, e as doenças autoimunes incluindo a diabetes mellitus insulino-dependentes, lupus sistémico eritmatoso, doença de Graves e doença celíaca (Wilson *et al.*, 1993).

#### 5.1.5.6.2. Moléculas da Classe II

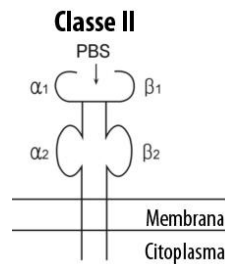


Figura 9- Diagrama esquemático da molécula HLA classe II (Choo, 2007)

Os produtos dos genes da classe II *DR*, *DP* e *DQ* são heterodímeros de duas cadeias polipeptídicas glicosiladas ligadas não-covalentemente,  $\alpha$  e  $\beta$ . Estas cadeias  $\alpha$  e  $\beta$  são transmembranares e possuem, de forma geral, as mesmas estruturas. Uma porção extracelular composta por dois domínios ( $\alpha_1$  e  $\alpha_2$ , ou  $\beta_1$  e  $\beta_2$ ) está ancorada à membrana por uma curta região transmembranar e um domínio citoplasmático. Polimorfismos nas moléculas da classe II ocorrem no primeiro domínio amino-terminal  $\beta_1$  dos produtos *DRB1*, *DQB1* e *DPB1*. Os domínios  $\alpha_1$  e  $\beta_1$  formam um PBS capaz de acomodar péptidos mais longos, com 12 ou mais aminoácidos (Choo, 2007).

A expressão das moléculas da classe II está normalmente restrita a células que possuem antígenos (Ag), tais como macrófagos, monócitos, células dendríticas e células de Langerhans. O complexo péptido-molécula é transportado para a superfície celular e reconhecido pelos linfócitos CD4+ (Delves, 2013).

#### 5.1.5.6.3. Moléculas da Classe III

A região da classe III do genoma codifica diversas moléculas importantes na inflamação, incluindo componentes do complemento C2, C4 e fator B, linfotoxina-  $\alpha$  e linfotoxina- $\beta$ , entre outras (Delves, 2013).

#### 5.1.5.7. UDP-Glucuroniltransferases (UGTs)

As UDP-Glucuroniltransferases são uma superfamília de proteínas, enzimas de fase II, localizadas no retículo endoplasmático e que desempenham um papel chave no metabolismo endobiótico e xenobiótico. As UGTs catalisam a conversão de moléculas lipofílicas em glucuronídeos mais polares e, por consequência, hidrofílicos, facilitando assim, a sua

subsequente eliminação via bÍlis, fezes e urina. Uma grande diversidade de substratos são alvos para glucuronidação tais como: fenóis, hormonas esteróides e carcinogénios ou ainda aminas terciárias de uso terapêutico e anti-inflamatórios não esteróides. Assim é notório que as UGTs desempenham um papel importante na desintoxicação de agentes endógenos, provenientes da dieta e clinicamente administrados, bem como, agentes químicos ambientais que foram demonstrados como podendo levar a um episódio tóxico ou cancerígeno (Strassburg *et al.*, 1999).

A superfamília de genes *UGT* inclui as quatro famílias UGT, nomeadamente UGT1, UGT2, UGT3 e UGT8. Os genes *UGT1* e *UGT2* juntos codificam para mais de 16 proteínas funcionais. O *UGT1A* engloba 17 exões e estende-se por mais de 198 kb, estando localizada no cromossoma 2q37 e codifica para mais de nove proteínas funcionais UGT1A. A UGT1A1 é uma das mais estudadas enzimas UGT devido ao seu papel primordial na excreção biliar da bilirrubina, um produto tóxico da degradação do heme. O seu papel fisiológico é também exemplificado pelo seu envolvimento na conjugação dos esteróides e hormonas da tiróide. Polimorfismos genéticos na região promotora da UGT1A1, por exemplo, estão associadas a uma redução da atividade de transcrição e resulta em síndrome de Gilbert, caracterizado por leve hiperbilirrubinemia não conjugada. Por sua vez, lesões mais significativas na UGT1A1 podem levar a formas mais severas de hiperbilirrubinemia conhecidas como Crigler-Najjar tipos I e II. A UGT1A1 possui ainda um papel crítico no metabolismo de muitos fármacos terapêuticos. Assim, quaisquer influências genéticas e/ou ambientais que alterem a atividade da glucuronidação da UGT1A1 pode ter consequências significativas ao nível fisiológico e farmacológico (Lévesque *et al.*, 2007).

#### 5.1.5.8. Sumário das associações entre SNPs das diversas proteínas e a terapia antirretroviral

Apresenta-se, em seguida, na tabela 4, as mais relevantes associações farmacogenéticas para os Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NRTIs), Inibidores Não-Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NNRTIs) e Inibidores da Protease (PIs).

**Tabela 4 - Associações chave relatadas para os Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NRTIs), Inibidores Não-Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NNRTIs) e Inibidores da Protease (PIs) (adaptado de Mahungu *et al.*, 2009).**

Classe	Função	Associações relatadas		
NRTI	Disposição	MRP4 3724G>A, 4131 T>G	Maior exposição intracelular da lamivudina trifosfato	
			Maior exposição intracelular da zidovudina trifosfato	
	Eficácia	---	---	
	Toxicidade	HLA B*5701	Reação de hipersensibilidade ao abacavir	
			MRP2 haplotipo CACT	Tubulopatia renal proximal pelo tenofovir
			TNF $\alpha$ -238A	Relatos conflituosos de um papel na lipoatrofia acelerada
			DNA mitocondrial (haplogrupo T)	Aumento da probabilidade do desenvolvimento de neuropatia periférica
NNRTI	Disposição	CYP2B6*6 (516G>T), CYP2B6*18 (983T>C)	Maior exposição ao efavirenz e nevirapine	
			Eficácia	CYP2B6*6 (516G>T)
	Toxicidade	CYP2B6*6 (516G>T), CYP2B6*18 (983T>C)	Neurotoxicidade ao efavirenz	
			HLA-DRB1*0101	Reação de hipersensibilidade à nevirapine e rash ao efavirenz
			HLA-Cw8	Reação de hipersensibilidade ao nevirapine na Sardenha
			ABCB1 3435C>T	Reduzido risco de hipersensibilidade à nevirapine
PI	Disposição	CYP3A5*3 (A6986G) CYP2C19*2 (681G>A) ORM1	Clearance oral mais rápida do saquinavir e indinavir	
			Maior exposição ao nelfinavir	
			Aumento da clearance do indinavir e lopinavir em indivíduos com o alelo variante (F1F1)	
	Eficácia	---	---	
	Toxicidade	UGT1A1*28 APOA5 (haplotipos não *1/*1) APOC3 (-455T>C, 482C>T, 3238C>G) APOE (isoformas não $\epsilon$ 3/ $\epsilon$ 3) CETP (279G>A) ABCA1 (2962A>G)	Hiperbilirrubinemia pelo atazanavir e indinavir	
			Hiperlipidemia associada ao ritonavir	

É feita, em seguida, a descrição dos mais importantes fatores genéticos que influenciam a farmacocinética e a farmacodinâmica de alguns dos antirretrovirais, mais clinicamente utilizados, pertencentes às três principais classes: Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NRTIs), Inibidores Não-Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NNRTIs) e Inibidores da Protease (PIs). Será posteriormente discutido, também sob o ponto de vista farmacogenético, de forma breve, outras classes de antirretrovirais, muitos destes ainda sob intenso desenvolvimento e em testes *in vitro*, mas que poderão representar o futuro da terapia antirretroviral: Inibidores de Fusão, Antagonistas CCR5 e Inibidores da Integrase.

## 5.2. Principais Classes de antirretrovirais

Tabela 5 - Antirretrovirais distribuídos pelas três principais classes

	Zidovudina (AZT)
<b>Inibidores nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NRTIs)</b>	Lamivudina (3TC)
	Tenofovir (TDF)
	Abacavir (ABC)
	Zalcitabina (ddC)
	Didanosina (ddI)
<b>Inibidores Não Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NNRTIs)</b>	Stavudina (d4T)
	Efavirenz (EFV)
	Nevirapine (NVP)
	Etravirine (ETR)
	Darunavir (DRV)
<b>Inibidores da Protease (PIs)</b>	Saquinavir (SQV)
	Lopinavir (LPV)
	Nelfinavir (NFV)
	Atazanavir (ATV)
	Indinavir (IDV)
	Ritonavir (RTV)

Infelizmente, devido ao seu elevado custo monetário, nem todos os antirretrovirais se encontram disponíveis em países pobres em recursos. De entre os dezassete acima mencionados na tabela 5, apenas cinco são comumente utilizados na terapia antirretroviral de alta eficácia nestes países, não existindo um único inibidor da protease entre eles. Estes são: a zidovudina, a lamivudina e a stavudina da classe dos NRTIs e a nevirapine e o efavirenz, pertencentes à classe dos NNRTIs (Colebunders *et al.*, 2005; World Health Organization, s.d.; Averting with HIV and AIDS, 2013).

### 5.2.1. Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa

Os Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (NRTIs) foram os primeiros antirretrovirais a serem aprovados para uso clínico e são uma classe de fármacos antirretrovirais cuja estrutura química constitui uma versão modificada de um nucleósido natural (Li *et al.*, 2013). Após fosforilação intracelular, são formados NRTI-trifosfato que competem pelo centro ativo da transcriptase reversa (RT) (Jochmans *et al.*, 2006). Como exemplos de fármacos inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa temos a Zidovudina (AZT), a Lamivudina (3TC), o Tenofovir (TDF) e o Abacavir (ABC) (Lubomirov *et al.*, 2013).

#### 5.2.1.1. Principais vias metabólicas dos NRTIs

Crê-se que a gluconidação hepática é a via metabólica predominante da zidovudina (AZT), enquanto que o abacavir é predominantemente metabolizado no fígado por intermédio das vias metabólicas álcool-desidrogenase e gluconidação. Por outro lado, a lamivudina (3TC) e o tenofovir (TDF) são excretados pelo rim, praticamente inalterados (Robbins *et al.*, 1998; Hewitt, 2002; Barbarino, s.d.; Bhise *et al.*, s.d.; Ghodke *et al.*, s.d.).

Como já mencionado anteriormente, a P-gp, a MRP2 e a MRP4, são reconhecidas como sendo proteínas fármaco-transportadoras que desempenham um papel no efluxo de nucleosídeos análogos. Da mesma forma, a BCRP, foi também demonstrada como tendo um papel importante na regulação intracelular das concentrações de purinas análogas. Assim vão desempenhar um papel chave, na concentração intracelular dos NRTIs (Anderson *et al.*, 2006; Varatharajan & Thomas, 2009; Loo & Clarke, 2014).

#### 5.2.1.2. Determinantes genéticos da eficácia

##### 5.2.1.2.1. Zidovudina e Lamivudina trifosfato

As concentrações intracelulares, tanto da zidovudina trifosfato (AZT) como da lamivudina trifosfato (3TC), demonstraram uma correlação positiva com a taxa de aumento de células CD4+ e a diminuição da carga viral do HIV em pacientes sob terapia antirretroviral pela primeira vez. A sobre-expressão de mRNA e proteína MRP4 está associada ao aumento do efluxo do fármaco, retirando-o para fora da célula e, assim, ao desenvolvimento subsequente de resistências ao AZT. A sobre-expressão de BCRP foi relatada, pela mesma razão, como estando associada à redução da atividade antiviral de ambos os fármacos AZT e 3TC. Dados sobre o impacto das variantes das MRP4 e BCRP no desenvolvimento de resistências, ainda necessitam ser explorados em maior detalhe (Fletcher *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2003).

Um estudo realizado por Anderson *et al.* (2006), mostrou que em indivíduos com alelos variantes MRP4 3724G>A e 4131T>G existia uma tendência para níveis intracelulares elevados de zidovudina trifosfato e lamivudina trifosfato, respetivamente. O significado funcional destas variantes na expressão ou função da MRP4 não foi caracterizada neste estudo.

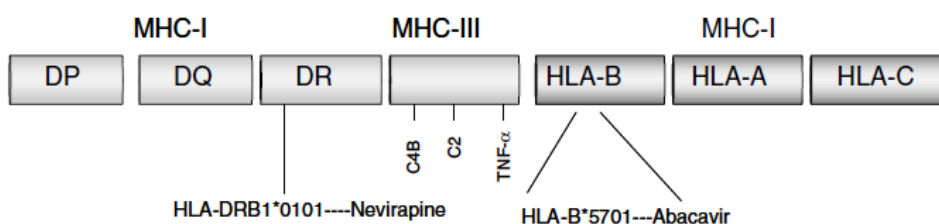
Anderson *et al.* (2006) afirmam ainda que as variantes da BCRP 421C>A e 34G>A não tiveram impacto nos níveis intracelulares de zidovudina trifosfato e lamivudina trifosfato.

### 5.2.1.3. Determinantes genéticos da toxicidade

#### 5.2.1.3.1. Reação de hipersensibilidade

Alguns anos após o lançamento do abacavir para o mercado foi feita a descoberta do HLA-B\*5701 (antigénio leucocitário humano subtipo HLA-B\*5701) como sendo um forte indicativo da reação de hipersensibilidade a este (Phillips, 2006; Lai-Goldman & Faruki, 2008; Knight, 2009; Aberg *et al.*, 2014).

O quadro clínico da reação de hipersensibilidade ao abacavir geralmente ocorre nas primeiras 6 semanas do início do tratamento e é normalmente caracterizado por febre, *rash* cutâneo, problemas abdominais e/ou respiratórios (Hughes *et al.*, 2008). O abacavir causa uma reação de hipersensibilidade em cerca de 5% a 8% dos pacientes que iniciam o tratamento (Hughes *et al.*, 2008; Lai-Goldman & Faruki, 2008). Este intervalo difere do publicado no artigo de 2010 por Valerio Tozzi que, sendo bem mais abrangente, refere a taxa de reação de hipersensibilidade como variando de 1% a 9% dos pacientes submetidos à terapia com o abacavir. Tipicamente, os pacientes pioram com a contínua administração do fármaco e, normalmente, melhoram nas 24 horas seguintes à sua descontinuação. No entanto, a nova administração de abacavir em pacientes que já exibiram uma anterior reação de hipersensibilidade a este, pode resultar numa severa recorrência dos sintomas numa questão de horas com um risco acrescido de hipotensão fatal e morte (Yokogawa & Alcid, 2007).



**Figura 10 - O Complexo de Histocompatibilidade Major (MHC).** O Complexo de Histocompatibilidade Major é um grande grupo de genes encontrados no braço curto do cromossoma 6. O MHC está dividido nas regiões classe I, II e III, cada uma contendo grupos de genes com funções relacionadas. Algumas das proteínas codificadas pelos genes influenciam o risco de toxicidade antirretroviral (Rodríguez-Nóvoa *et al.*, 2006).

O desenvolvimento da hipersensibilidade ao abacavir foi, como dito anteriormente, associado com um específico haplótipo (HLA-B\*5701) no Complexo de

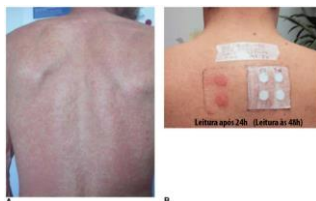
Histocompatibilidade Major (MHC), o mais polimórfico de todos os genes humanos. (Figura 10) (Martin *et al.*, 2004).

Acredita-se que a reação de hipersensibilidade ao abacavir é despoletada quando a molécula HLA-codificada apresenta o fármaco NRTI para ativação na célula-T. A libertação das citocquinas e quimioquinas inflamatórias, proteínas sinalizadoras que ajudam e estimulam o movimentos das células para locais de inflamação, infeção e trauma, inicia uma cascata de eventos responsável pelas características clínicas da reação de hipersensibilidade ao abacavir (Tozzi, 2010; Mandal, 2012).

#### 5.2.1.3.1.1. Estudos realizados

Phillips e Mallal (2008) citam dois grupos independentes que, em 2002, publicaram uma associação entre o HLA-B\*5701 e o síndrome de hipersensibilidade ao abacavir, dando a promessa de que um teste prospetivo genético poderia ser usado na prática clínica para prevenir uma reação de toxicidade específica. Estudos subsequentes mostraram uma baixa sensibilidade do HLA-B\*5701 para a hipersensibilidade ao abacavir, em populações não-caucasianas tais como Afro-Americanos e Hispânicos, que atraiu incertezas de se o HLA-B\*5701 poderia ser implicado na hipersensibilidade ao abacavir de uma forma generalizada em cenários mais diversos.

Estudos posteriores, demonstraram que esta baixa sensibilidade, encontrada em alguns estudos e algumas raças, era amplamente apoiada por falsos positivos no diagnóstico clínico da hipersensibilidade ao abacavir, para os quais contribuíram os sinais e sintomas não específicos desta (DeJesus *et al.*, 2004).



**Figura 11 - (A) "Rash" macular cutâneo num paciente a receber terapia com abacavir. (B) Teste do adesivo que confirma que o rash é proveniente de uma hipersensibilidade ao abacavir (Altman *et al.*, 2012).**

Esta dificuldade em identificar o verdadeiro fenótipo da hipersensibilidade ao abacavir imunologicamente mediada, foi ultrapassada pelo desenvolvimento do teste do adesivo. Este adesivo é colocado sobre a pele e as reações são lidas às 24h e 48h após a aplicação. Um teste

positivo requer a ausência de uma resposta alérgica no local de controlo e a exibição de mudanças típicas da pele consistentes com o eritema e “rash” vesicular limitados à área do adesivo, como se pode ver na figura 11. Diversos estudos clínicos, realizados em 2007, demonstraram a generalização do teste do HLA-B\*5701 ao longo de populações raciais e geográficas diversas e que indicaram uma utilidade clínica com um perfeito valor preditivo negativo (Martin *et al.*, 2004; Lai-Goldman & Faruki, 2008; Phillips & Mallal, 2008).

Claro que isto não pode substituir a vigilância clínica uma vez que já existiram raras ocasiões em que pacientes com testes negativos para HLA-B\*5701 (mas com testes de adesivos positivos) apresentaram sintomas sugestivos de hipersensibilidade (Waters *et al.*, 2007).

Esta descoberta tem uma grande relevância clínica uma vez que, se for feita uma prospeção pelo HLA-B\*5701 previamente ao início da terapia com abacavir, reduz substancialmente a possibilidade de reação de hipersensibilidade a este (Knight, 2009). Isto é suportado por Rauch *et al.* (2005), citados por Phillips e Mallal (2008) que desde 2002 realizam testes propetivos pelo HLA-B\*5701 e relataram que o abandono da terapia com o abacavir pode ser dramaticamente reduzida utilizando esta estratégia.

#### 5.2.1.3.2. Insuficiência renal

O Tenofovir DF (TDF) é um nucleótido inibidor da transcriptase reversa, desenvolvido pela Gilead Sciences of Foster City, Califórnia (TheBody.com, s.d.) e, segundo Matthews no seu artigo de 2007, encontra-se entre os mais amplamente prescritos fármacos na terapia antirretroviral.

O TDF tem uma extensa excreção renal facilitada pelos “human Organic Anion Transporter” (hOAT) e pelos transportadores proteicos “multi-drug resistant”, localizados na membrana basolateral do túbulo próximo (Cha *et al.*, 2001; Barrios *et al.*, 2004).

O TDF ocasionalmente causa patologia renal de gravidade variável que pode ir desde a insuficiência renal aguda até tubulopatia renal proximal e que pode não ser totalmente reversível (Herlitz *et al.*, 2010). O mecanismo de nefrotoxicidade pode ser associado a uma inibição da MRP4 o que leva a um aumento dos níveis intracelulares de tenofovir que pode aumentar os seus efeitos nefrotóxicos (Kalyesubula & Perazella, 2011).

#### 5.2.1.3.2.1. Estudos Realizados

O TDF e o AZT parecem ser muito semelhantes farmacocinética e farmacodinamicamente. Dois estudos com 586 participantes não encontraram qualquer diferença relevante entre estes dois antirretrovirais, no que refere a sérios efeitos adversos ou resposta virológica. Encontraram, no entanto, maiores taxas de aderência e resposta imunológica em regimes que contêm TDF quando comparados com os que utilizam AZT. Ainda assim, este aumento é, em média, de 32 CD4+ células/ $\mu$ L, tornando-o, de marginal significância (Spaulding *et al.*, 2011).

Num estudo de coorte pequeno e predominantemente caucasiano, houve uma significativa correlação entre os haplótipos MRP2 e o risco de tubulopatia renal. O haplótipo CATC foi encontrado mais frequentemente em pacientes com tubulopatia renal proximal quando comparado com os grupos de controle, e o haplótipo CGAC pensa-se ser protetor uma vez que nunca foi encontrado nos grupos com tubulopatia renal proximal mas, apenas, nos grupos de controle, acima mencionados, numa taxa de cerca de 20% (Izzedine *et al.*, 2006).

Segundo o mesmo autor, o estudo sugere que a tubulopatia renal próxima pode estar significativamente associada a uma única substituição G>A na posição 1249 do gene membro 2 da “ATP-binding cassette”, sub-família C, (ABCC2, localizado no cromossoma 10, na posição 10q24). Este SNP encontra-se presente em 77% dos pacientes testados no grupo dos pacientes com tubulopatia. Verifica-se, após controlarem-se a idade, sexo e a duração da infeção pelo HIV, que os haplótipos ABCC2 estavam significativamente associados ao aparecimento de tubulopatia renal proximal induzida pelo TDF (Izzedine *et al.*, 2006; Yale University, 2014).

#### 5.2.1.3.3. Pancreatite e lipoatrofia periférica

A primeira geração de nucleosídeos análogos tais como o AZT, zalcitabina (ddC), didanosina (ddI) e stavudina (d4T) estão associados com o potencial desenvolvimento de lipoatrofia periférica, esteatohepatite, acidose láctica e pancreatite (Brinkman *et al.*, 1999; Setzer *et al.*, 2005).

Frippiat *et al.* (2000) numa publicação no “Journal of Antimicrobial Chemotherapy” afirmou como tendo sido associado o uso de didanosina (ddI) por si só, ou em associação com stavudina (d4T), com o desenvolvimento de pancreatite em pacientes HIV.

O aumento do risco de pancreatite na população em geral, tem sido relacionado com mutações do regulador de condutância transmembranar da fibrose cística (CFTR) e do inibidor de protease da serina kazal tipo 1 (SPINK-1) (Cavestro *et al.*, 2010). Foi por estas razões, que Felley *et al.* (2004) conduziram um estudo de controle para avaliar a frequência de mutações no CFTR e polimorfismos SPINK-1 em pacientes quer com hiperamilasemia assintomática quer com pancreatite sintomática. Entre os pacientes com hiperamilasemia assintomática, aqueles com mutações no CFTR ou SPINK-1, apresentavam níveis mais elevados de amilase quando comparados com os que não tinham mutações. As mutações CFTR e polimorfismos SPINK-1 foram também associados a pancreatite clínica, o que sugere que poderão aumentar a suscetibilidade a esta em pacientes tratados com NRTIs que são expostos a fatores adicionais de risco (Felley *et al.*, 2004; Telenti & Zanger, 2008).

#### 5.2.1.3.4. Neuropatia periférica

Segundo Keswani *et al.* (2002) e Anderson *et al.* (2004) a toxicidade a longo prazo com os NRTIs, pode estar relacionada com a fosforilação intracelular que estes sofrem para se tornarem metabolitos ativos. A sobre-ativação da fosforilação destes fármacos e/ou uma lesão mitocondrial devido à inibição de DNA polimerase-gama mitocondrial pelo próprio fármaco NRTI-trifosfato podem ser as causas da toxicidade a longo prazo.

Esta inibição da DNA-polimerase-gama mitocondrial causada pelo fármaco NRTI pode possivelmente levar à depleção do DNA mitocondrial e consequente disfunção da mitocôndria. O DNA mitocondrial, um genoma maternalmente herdado, localizado na mitocôndria de cada célula humana, codifica para proteínas envolvidas na fosforilação oxidativa e produção de energia celular. Os haplogrupos mitocondriais foram recentemente associados com doenças neurodegenerativas humanas (van der Walt *et al.*, 2003).

#### 5.2.1.3.4.1. Estudos realizados

O genoma humano mitocondrial consiste numa molécula de DNA circular que codifica para RNA ribossomal, RNA de transferência e 13 polipéptidos que são essenciais para a fosforilação oxidativa. SNPs estáveis no genoma mitocondrial têm surgido nos últimos 150.000 anos e combinações destes polimorfismos definem os haplogrupos mitocondriais, muitos deles predominantes em determinadas populações. Um desses haplogrupos, denominado haplogrupo T, encontra-se presente em cerca de 10 a 15% de indivíduos de descendência europeia, e é definido pelas mutações pontuais 7028C>T, 10398G>A, e 13368G>A (van der Walt *et al.*, 2003; Hulgan *et al.*, 2005).

Hulgan *et al.* (2005) estudaram os fatores genéticos que poderiam influenciar a suscetibilidade à neuropatia periférica associada aos NRTIs, mais concretamente associada à presença do haplogrupo T mitocondrial. Neste estudo, que explora o papel dos SNPs mitocondriais na toxicidade dos NRTIs, pacientes caucasianos escolhidos aleatoriamente para receberem ambos d4T e ddI, eram cinco vezes mais prováveis de desenvolver neuropatia periférica se pertencerem ao haplogrupo mitocôndrial T.

Canter *et al.* (2008) estudaram dois polimorfismos mitocondriais não sinónimos, 4216C e 4917G, ambos encontrados no haplogrupo T, em 250 pacientes infetados pelo HIV e expostos a NRTIs. Após ajustar para idade, contagem basal de CD4+, nível de HIV, RNA plasmático e exposição ao fármaco, ambos 4216C e 4917G foram independentemente associados com a neuropatia periférica. Segundo o mesmo estudo, polimorfismos no genoma mitocondrial podem afetar a eficiência da fosforilação oxidativa e perturbar a produção energética, despoletando o surgimento de neuropatia periférica após a exposição a alguns NRTIs.

Num estudo de coorte levado a cabo por R. Lubomirov, Sara Colombo, Julia di Iulio *et al.* e publicado no *Journal of Infectious Diseases* em 2011 foram observados 500 pacientes “naïve” em terapia antirretroviral aos quais foram administrados tenofovir. Desses 500, 70 (14%) descontinuaram o tratamento no primeiro ano. As diversas variantes genéticas avaliadas neste estudo não apresentaram qualquer significância estatística associada às taxas de descontinuação de tratamento. Por exemplo, no primeiro ano, indivíduos com um (CT) ou dois (TT) alelos de risco do gene ABCC4 rs899494 descontinuaram o tenofovir com taxas cumulativas de 19% e 7%, respetivamente, comparados com os 13% entre os indivíduos sem

o alelo de risco (CC). Seria de esperar que o número de alelos de risco em heterozigotia (CT) ou homozigotia (TT) fosse diretamente proporcional à taxa de descontinuação, mas tal não se verifica neste estudo.

Existe uma tendência a estudos desenvolvidos terem amostras predominantemente caucasianas. Isto pode levar a conclusões que poderão não ser extrapoláveis para populações não-caucasianas, facto importante se lembrarmos o artigo de Stephano Vella (2012) que aponta esta classe como a primeira linha de antirretrovirais em países sub-desenvolvidos.

### 5.2.2. Inibidores não-nucleosídeos da transcriptase reversa

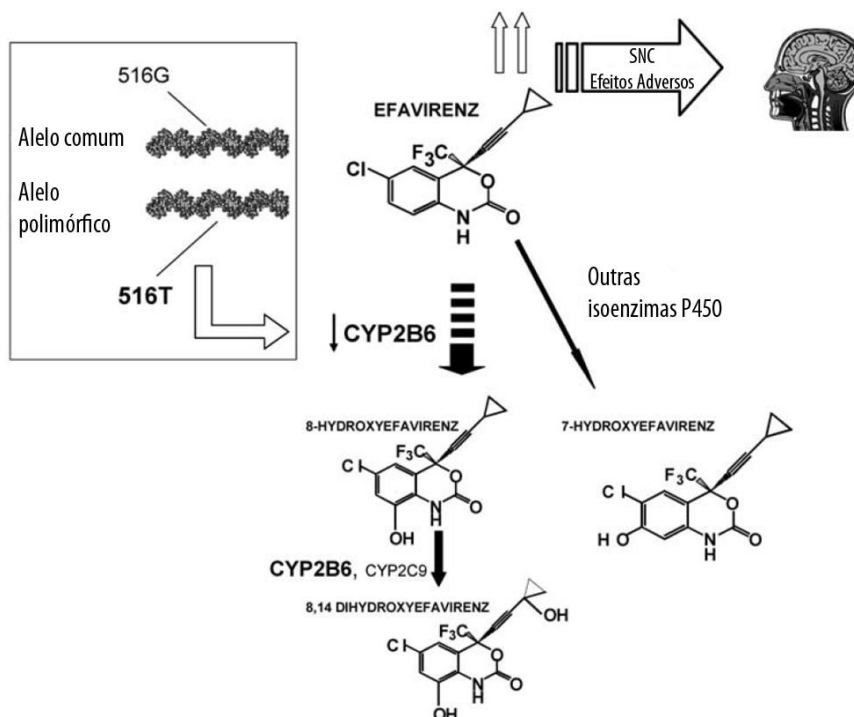
Os Inibidores não-nucleosídeos da transcriptase reversa (NNRTIs) são uma classe de fármacos antirretrovirais que atuam como inibidores não competitivos da transcriptase reversa do HIV-1. NNRTIs licenciados incluem a nevirapine (NVP), efavirenz (EFV) e o Etravirine (ETR) (Sluis-Cremera & Tachedjian, 2008; Lubomirov *et al.*, 2013).

De entre os NNRTIs, a nevirapine é amplamente utilizada em países com poucos recursos devido ao seu baixo custo, sendo indicada para mulheres com potencial de serem mães devido a não ser um agente teratogénico conhecido. Em muitos países é o único NNRTI disponível (Kwara *et al.*, 2010).

#### 5.2.2.1. Principais via metabólicas dos NNRTIs

A maioria dos estudos sobre os determinantes farmacogenéticos da disposição, eficácia e toxicidade dos NNRTIs têm-se focado nos genes envolvidos no metabolismo (i.e. polimorfismos genéticos do citocromo p450), transporte (i.e. polimorfismos genéticos da P-gp) e reações de hipersensibilidade (i.e. polimorfismos genéticos do sistema HLA) (John *et al.*, 2005; Ritchie *et al.*, 2006).

Na maioria dos protocolos da HAART, a administração de efavirenz (EFV) em conjugação com mais dois NRTIs é recomendado como primeira linha de tratamento em regimes de pacientes que iniciam a terapia. Assim sendo, o EFV está entre os fármacos antirretrovirais mais utilizados (Kuritzkes *et al.*, 2008; Cabrera *et al.*, 2009).



**Figura 12 - Via metabólica do Efavirenz. A baixa atividade do CYP2B6, devido a polimorfismos genéticos, resulta em níveis de plasma EFV que são associados a uma mais elevada incidência de toxicidade no sistema nervoso central (adaptado de Rodríguez-Nóvoa *et al.*, 2006).**

O Efavirenz (EFV) é predominantemente metabolizado pelo citocromo P450 2B6 (CYP2B6) em 8-hidroxiefavirenz, o seu metabolito predominante, com uma pequena contribuição dos citocromos P450 3A4 (CYP3A4), P450 3A5 (CYP3A5) e P450 2A6 (CYP2A6) (Arab-Alameddine *et al.*, 2009; Mukonzo *et al.*, 2013; Sukasem *et al.*, 2013).

A nevirapine (NVP) é, por outro lado, predominantemente metabolizada pelo CYP3A4 e pelo CYP2B6 respetivamente em, 2-hidroxinevirapine e 3-hidroxinevirapine, os seus principais metabolitos, com uma contribuição menor do citocromo P450 3A5 (CYP3A5) (Creus *et al.*, 1999; Phillips & Mallal, 2008; Dickinson *et al.*, 2014). De entre as muitas isoenzimas no citocromo P450, a CYP3A4 é a mais abundante, metabolizando aproximadamente cerca de 50% dos fármacos que são excretados pela via metabólica (Kreutz *et al.*, 2013). O gene que o codifica possui uma lata variedade de expressões polimórficas inter-individuais e estas variantes genéticas desempenham um papel importante na variabilidade da concentração plasmática do EFV e NVP (Ingelman-Sundberg *et al.*, 2007; Arab-Alameddine *et al.*, 2009; Abdelhady *et al.*, 2014; Dickinson *et al.*, 2014). Por estas razões, os genes CYP2B6, CYP3A4 e CYP3A5 têm sido extensivamente estudados no que

respeita à farmacocinética, resposta ao tratamento e toxicidade de ambos EFV e NVP (Tozzi, 2010).

#### 5.2.2.2. Determinantes genéticos da eficácia

É sugerido que cerca de 90% da variabilidade funcional dos NNRTIs é devida a fatores genéticos (Kreutz *et al.*, 2013). A absorção oral e a penetração tecidual dos NNRTIs são afetadas pela glicoproteína-P (P-gp), uma proteína humana de transporte codificada pelo ABCB1, como já discutido anteriormente. Polimorfismos no gene ABCB1 podem ser associados com diferentes atividades da P-gp e, conseqüentemente, na biodisponibilidade dos fármacos no organismo. Embora a associação entre as variantes alélicas do gene ABCB1 e as concentrações plasmáticas de NNRTIs sejam estudadas cada vez mais detalhadamente, alguns polimorfismos são ainda pobremente compreendidos (Chaillou *et al.*, 2002; Kreutz *et al.*, 2013).

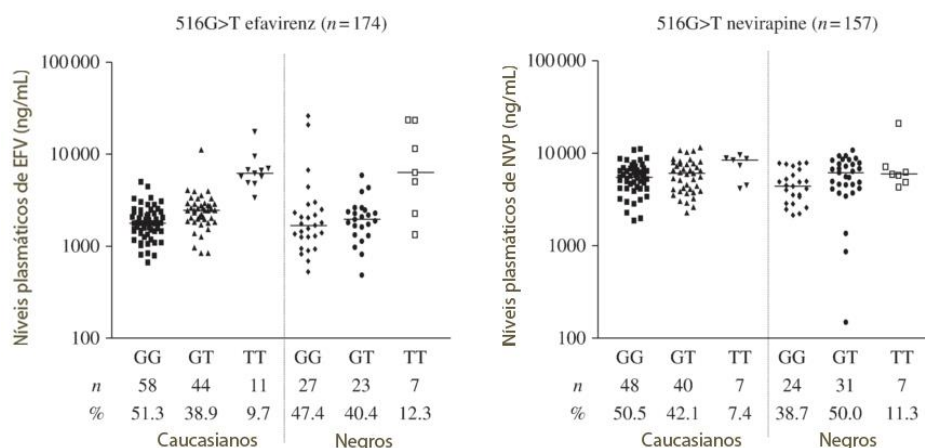
##### 5.2.2.2.1. Estudos realizados

Diversos estudos relataram uma associação entre os SNPs CYP2B6 516G>T e o 785A>G com a taxa de clearance do efavirenz do plasma e a ocorrência de efeitos secundários adversos (Parathyras *et al.*, 2009; Ribaudó *et al.*, 2010; Manosuthi *et al.*, 2013). A descoberta inicial de uma associação, entre o CYP2B6 516G>T e elevados níveis de EFV em indivíduos homocigotos para o alelo mutante, foi replicada em vários estudos de coortes etnicamente diferentes. Mais ainda, o polimorfismo CYP2B6 983T>C, presente predominantemente em indivíduos de descendência africana ocidental, demonstrou, de entre outros polimorfismos, um dos que pode levar à perda de função do CYP2B6, resultando numa ainda maior exposição plasmática ao EFV (Mehlotra *et al.*, 2007; Jamshidi *et al.*, 2010).

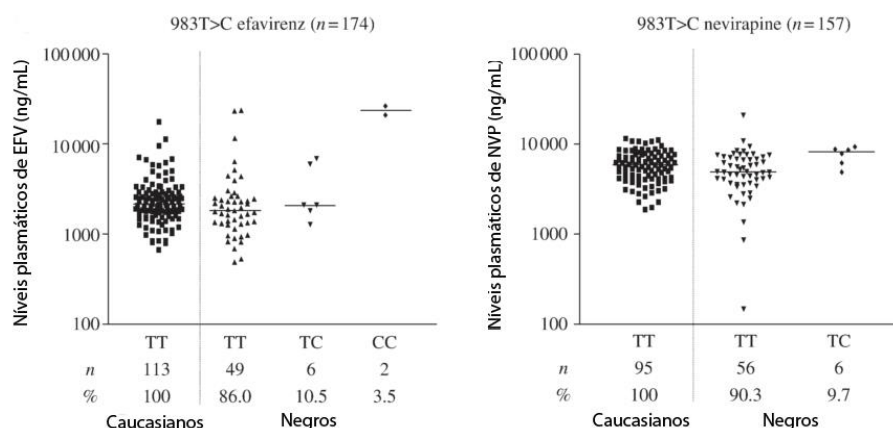
Ribaudó *et al.* no seu artigo de 2010, reclamaram ter genotipado o CYP2B6, mais do que qualquer outro estudo prévio, e terem claramente estabelecido que o CYP2B6 983T>C melhora a habilidade preditiva do CYP2B6 516G>T. Assim, segundo estes autores, a presença do primeiro, parece coadjuvante do efeito do segundo para a farmacocinética do Efavirenz, embora afirmem que uma considerável variabilidade interindividual continua ainda por explicar para estes dois polimorfismos.

No estudo coorte, já anteriormente referido, realizado por Lubomirov *et al.* em 2011, dos 272 pacientes que receberam terapia com o efavirenz, 81 descontinuaram o tratamento durante o primeiro ano com uma taxa acumulativa de 30%. Para 3 destes 81 houve uma redução da dosagem em lugar de uma descontinuação completa; dois desses três tiveram a toxicidade neuropsicológica como causa para a redução da dosagem. Consistente com as associações farmacocinéticas conhecidas, e anteriormente referidas, os dados deste estudo indicaram que a perda da função do CYP2B6 (através de homozigotia do alelo mutante, presença de alelos de decréscimo, por exemplo), com um concomitante decréscimo da função das vias metabólicas acessórias (por presença de alelos de decréscimo ou perda de função do CYP2A6 e/ou CYP3A4) foi associada com um maior risco de descontinuação.

Existem também, cada vez mais, observações de que o polimorfismo CYP2B6 516G>T está associado, não só com a disponibilidade do EFV, mas também com concentrações mais altas de NVP no plasma (Manosuthi *et al.*, 2013). Wyen *et al.* (2008) afirma não só ter confirmado este achado, mas também ter demonstrado que a heterozigotia no CYP2B6 983T>C está também associada, tal como o efavirenz na população negra, a maiores concentrações de NVP no plasma (figuras 13 e 14). Isto foi também afirmado por Laura Dickinson, da Universidade de Liverpool ao conduzir um estudo na população da República do Malawi (Dickinson *et al.*, 2014).



**Figura 13 - Impacto dos polimorfismos CYP2B6 516G>T nas concentrações plasmáticas de EFV e NVP de acordo com a etnia (adaptado de Wyen *et al.*, 2008).**



**Figura 14 - Impacto dos polimorfismos CYP2B6 983T>C nas concentrações plasmáticas de EFV e NVP de acordo com a etnia (adaptado de Wyen *et al.*, 2008).**

A implicação clínica desta observação permanece ainda obscura segundo Phillips & Mallal (2008), mas, dado que níveis mais elevados de NVP no plasma têm sido associados a um aumento do risco de toxicidade hepática, indivíduos com o alelo polimórfico deverão ser investigados em relação a um aumento na concentração de enzimas hepáticas durante o tratamento com NVP (Rodríguez-Nóvoa *et al.*, 2006).

Ambos os CYP3A4 e CYP3A5 são parte do aglomerado CYP3A, que é responsável pelo metabolismo de 60% dos fármacos atualmente utilizados. Um polimorfismo CYP3A5 frequente (6986A>G), pára a formação de CYP3A5 funcional. Este polimorfismo é mais comum em caucasianos e é raramente aparente, uma vez que a maioria dos fármacos metabolizados pelo CYP3A5 são também metabolizados pelo CYP3A4, de forma que a perda de função do CYP3A5 pode, dentro de determinados limites, ser compensada pelo CYP3A4 (Zeigler-Johnson *et al.*, 2004; Ribaudó *et al.*, 2010).

Apesar do significado das variantes do CYP2B6 como fortes indicadores de exposição ao EFV, não existem relatos de uma associação entre estas variantes e os resultados virológicos e imunológicos dos pacientes submetidos ao tratamento por EFV. Num estudo de coorte retrospectivo pediátrico, tratamentos à base de NVP relataram uma significativa relação entre o genótipo CYP2B6 516G>T e as respostas imunológicas à 12<sup>a</sup> e 24<sup>a</sup> semanas. O aumento percentual de células CD4<sup>+</sup>, era três vezes mais elevado em pacientes com o genótipo 516TT, quando comparados com aqueles que tinham o genótipo 516GG (Saitoh *et al.*, 2007).

Embora estudos *in vitro* relatem que a glicoproteína-P não é o principal transportador para o efavirenz, diversos estudos em África relataram uma associação entre variações

genéticas no ABCB1 e as concentrações intracelulares do efavirenz e/ou com o resultado terapêutico. Associações entre o ABCB1 4036A>G com concentrações plasmáticas mais elevadas de efavirenz em pacientes com HIV no Uganda, África do Sul, Etiópia e Tanzânia, bem como noutras populações não africanas. É também relatada uma associação entre o ABCB1 3435C>T, localizado no cromossoma 7 como já dito anteriormente, e a recuperação das células CD4+ após terapia com efavirenz (Mukonzo *et al.*, 2009; Swart *et al.*, 2012; Mukonzo *et al.*, 2013; Ngaimisi *et al.*, 2013).

Fellay *et al.*, num estudo referido e qualificado de “importante” por Parathyras em 2009, detetou uma associação entre o SNP 3435 C>T e as diferenças nas concentrações plasmáticas dos fármacos nelfinavir e efavirenz. Nesta associação, a concentração farmacológica nos pacientes com o genótipo ABCB1 3435C>T estava nos 50%, comparado com os que possuíam o genótipo ABCB1 3435T>T e ABCB1 3435C>C que estariam nos 30% e 75%, respetivamente. Um estudo subsequente por Nasi *et al.* (2003), não conseguiu confirmar estes achados – O polimorfismo ABCB1 3435C>T foi afirmado por este autor como não exercendo qualquer influência na resposta imunológica à terapia antirretroviral em adultos seropositivos não sujeitos a tratamento antirretroviral (Parathyras *et al.*, 2009).

Uma associação entre ABCB1 3435C>T e a redução da probabilidade de falha virológica em pacientes que recebem terapia com EFV já foi também relatada. No entanto, o mecanismo pelo qual isto acontece, permanece elusivo (Coelho *et al.*, 2013).

#### 5.2.2.3. Determinantes genéticos da toxicidade

Os níveis plasmáticos de ambos EFV e NVP foram demonstrados como sendo preditivos de fracasso no tratamento (Veldkamp *et al.*, 2001; Csajka *et al.*, 2003). Se estes níveis estiverem abaixo de um determinado valor, surge o risco de desenvolvimento de resistência ao fármaco e falha do tratamento. Se forem demasiado elevados, existe um maior risco de surgimento de efeitos adversos à terapia (Rodriguez-Novoa *et al.*, 2005)

##### 5.2.2.3.1. Toxicidade do sistema nervoso central

Mais de 50% de todos os indivíduos submetidos a EFV apresentam efeitos secundários no sistema nervoso central (SNC). Os efeitos secundários mais comuns, tais como: insónia, tonturas, sonhos vívidos e cefaleias, são normalmente brandos (Mukonzo *et al.*, 2013).

Nalguns casos, no entanto, os pacientes apresentaram sintomas mais severos tais como depressão e psicose. Mukonzo *et al.* (2013), afirmam que a toxicidade do SNC está, normalmente, associada a níveis plasmáticos de EFV superiores a 4000µg/l. Em oposição, a *rash* associada a este antirretroviral tende a ser leve, independente dos níveis plasmáticos de EFV e, na maioria das situações, controladas com anti-histamínicos e corticosteróides tópicos (Kappelhoff *et al.*, 2005).

O Efavirenz é amplamente utilizado no tratamento de pacientes seropositivos dada a sua potência e conveniência. No entanto, o EFV possui uma estreita amplitude terapêutica, uma vez que valores plasmáticos superiores a 4000 µg/ml têm sido associados com toxicidade do Sistema Nervoso Central (SNC), como já mencionado acima, enquanto que a taxa de falha virológica parece aumentar caso as concentrações do fármaco caiam para valores inferiores a 1000µg/l (Marzolini *et al.*, 2001).

O SNP mais comum e melhor caracterizado no CYP3A4 é a transição -392A>G, designada como o alelo CYP3A4\*1B (Parathyras *et al.*, 2009). Variações no metabolismo hepático do EFV são uma das principais causas para a variação interindividual nas concentrações plasmáticas do fármaco. Neste contexto, portadores da troca A→G no alelo CYP3A4\*1B, mostram uma diminuição da atividade da proteína codificada, e assim uma clearance diminuída do EFV no fígado. De salientar também que pacientes com os polimorfismos CYP2D6 1846 G>A ou CYP2D6 A>del têm uma tendência a terem níveis plasmáticos mais elevados com efavirenz (Rodríguez-Nóvoa *et al.*, 2006). Um outro SNP associado à diminuição da atividade é denominado CYP3A4\*22 que, segundo um estudo elaborado por Kreutz *et al.* (2013) não é exclusivo de populações africanas, mas correntemente encontra-se já disseminado por populações europeias.

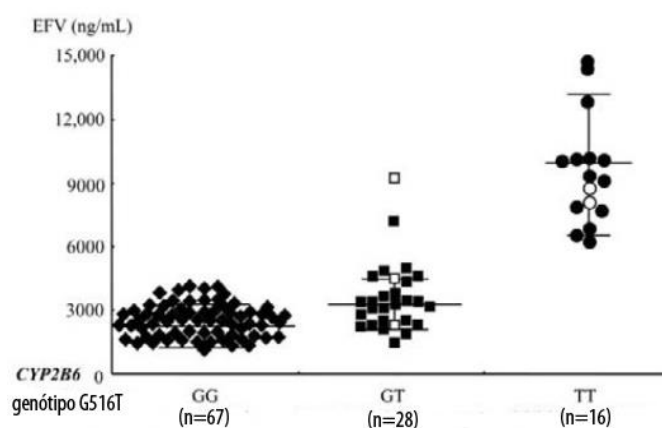
Como já referido anteriormente, o EFV é metabolizado primariamente pela isoenzima 2B6 do sistema citocromo P450 (CYP2B6), numa série de metabolitos dos quais o 8-hidroxi-efavirenz é o mais abundante e o 7-hidroxi-efavirenz é o seu metabolito menor, como pode ser visto na Figura 12 (Tovar-y-Romo *et al.*, 2012).

**Tabela 6 - Polimorfismos genéticos na isoenzima CYP2B6 e a sua influência no metabolismo hepático dos antirretrovirais (adaptado de: Rodríguez-Nóvoa *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2009).**

Mudança de nucleótido no gene CYP2B6	Substituição do aminoácido na isoenzima CYP2B6	Impacto no metabolismo dependente da CYP2B6 (efeito observado)
64C>T	R22C	
777C>T	S259R	
785A>G	K262R	Reduzido (baixa de atividade)
1459C>T	R487C	
516G>T	Q172H	Reduzido (baixa de atividade)
415A>G	K139E	Reduzido (baixa de expressão)
62A>T	Q21L	
136A>G	M46V	Reduzido (baixa de expressão)
296G>A	G99E	Reduzido (baixa de expressão)
419G>A	R140Q	Reduzido (baixa de expressão)
82T>C (TATA box)		Aumentado (aumento de expressão)
1172T>2	I391N	Reduzido (baixa de atividade)

A relevância dos polimorfismos do CYP2B6 no metabolismo do EFV tem sido extensivamente analisada. Diversos polimorfismos conformando alelos diferentes têm sido descritos, tendo alguns deles sido testados, a fim de determinar a sua influência na expressão da proteína CYP2B6 (Tabela 6). Alelos com os polimorfismos 415A>G, 516G>T, 136A>G, 296G>A, 785A>G, 419G>A, e 1172T>A, por exemplo, foram associados com diferenças na expressão das proteínas codificadas (Wang *et al.*, 2009).

#### 5.2.2.3.1.1. Estudos realizados



**Figura 15- Média dos níveis plasmáticos do efavirenz de acordo com o genótipo CYP2B6-516. GG, genótipo comum; GT, genótipo heterozigoto; TT, genótipo homozigoto polimórfico (adaptado de Gatanaga *et al.*, 2007).**

Haas *et al.* (2005) investigaram o impacto do polimorfismo CYP2B6 516G>T na clearance do EFV, num estudo que incluiu pacientes de diversas etnias. Uma redução significativa no metabolismo do EFV foi registada, assim como um aumento de EFV em pacientes com o genótipo TT no nucleótido 516 do gene 2B6. Concordantemente, pacientes com o genótipo TT tratados com EFV, mostraram uma incidência superior de efeitos adversos no SNC, quando comparados com portadores do genótipo CC (Owen, 2006). Segundo Gatanaga *et al.* (2007) os níveis plasmáticos de EFV são grandemente influenciados pelos genótipos do CYP2B6 e, conseqüentemente, a taxa de toxicidade no SNC é mais frequente em pacientes que detêm o genótipo TT ou GT quando comparados com os portadores do genótipo GG (Figura 15).

Haas *et al.* (2004) afirmaram que o papel do CYP2B6 516G>T como previsor de toxicidade do SNC induzida por EFV, é limitada à primeira semana de terapia. Além deste período, os efeitos secundários no SNC são independentes dos níveis plasmáticos de EFV. Existe um crescente interesse na utilização do conhecimento do genótipo do CYP2B6 516G>T na individualização da dosagem de EFV, na tentativa de reduzir os efeitos secundários sobre o SNC. Infelizmente, a utilidade clínica deste teste está ainda por demonstrar uma vez que, até agora, os estudos têm-se limitado a poucos relatos e ao facto de que as mutações homozigóticas do CYP2B6 516G>T nem sempre possuem níveis elevados de EFV, como pode ser constatado na figura 15 (Núñez *et al.*, 2001; Rotger *et al.*, 2005).

Gatanaga e Oka (2009), realizaram um estudo clínico em que reduziram a dosagem de EFV, em 12 pacientes com o polimorfismo CYP2B6 516G>T, que se descobriu terem concentrações de EFV extremamente elevadas quando tratados com a dosagem padrão. A dosagem foi reduzida de 600 para 400mg em cinco indivíduos e para 200mg em sete. As cargas virais de HIV-1 destes pacientes, foram suprimidas com sucesso com estas dosagens, abaixo do limite de deteção (50 cópias/ml). Um fator de interesse é que nove destes doze pacientes sofriam de sintomas crónicos relacionados com o SNC com a dosagem padrão mas todos os nove melhoraram com a redução.

Resumindo, como visto acima, e também segundo Puthanakit *et al.* (2009) que estudaram este polimorfismo em crianças, este parece estar associado às diferenças nos níveis plasmáticos de EFV e toxicidades do SNC na maior parte das populações, o que sugere a prescrição de doses mais baixas, em pacientes portadores do genótipo TT, em ordem para minimizar os efeitos secundários, sem comprometer a eficácia do fármaco.

No entanto, no seu estudo de 2011, sobre a descontinuação da terapia antirretroviral, Lubomirov *et al.* afirmam que a perda da via metabólica primária, CYP2B6, é necessária mas não suficiente para um aumento da descontinuação do tratamento por efavirenz. Estes autores declaram que, os níveis extremamente elevados do fármaco no plasma, resultam da perda das vias metabólicas quer da principal (CYP2B6) quer da acessória (CYP3A4 e/ou CYP2A6). Os autores afirmam ainda que, consistente com os dados farmacocinéticos por eles encontrados, os indivíduos que apresentam perda dos metabolismos acessórios no contexto de uma perda de função homozigótica do CYP2B6, mostram o maior risco de descontinuação.

A longa semi-vida do EFV explica o facto de, após o descontinuar do fármaco, concentrações acima do IC<sub>50</sub> podem ser detetadas até 21 dias após a interrupção do tratamento. Pacientes com o genótipo TT podem seleccionar mutações resistentes ao EFV com maior facilidade, uma vez que a clearance do EFV do plasma é, em média, mais demorada do que nos com o genótipo GG. Se tal for provado, diferenças no metabolismo do EFV devem ser consideradas aquando da decisão sobre o tempo ótimo para parar os regimes que contêm este fármaco (Rodríguez-Nóvoa *et al.*, 2006).

Lubomirov *et al.* (2011) vão mais longe, questionando mesmo o interesse de iniciar a terapia com efavirenz, em indivíduos com o risco genético acima discutido, se dois terços deles irão descontinuar o fármaco.

#### 5.2.2.3.2. Hepatotoxicidade

O uso de nevirapine (NVP) é limitado por provocar uma reação de hipersensibilidade imunomediada, potencialmente fatal, que se manifesta por hepatotoxicidade, febre e/ou *rash*, em aproximadamente 5-6% dos indivíduos (Phillips & Mallal, 2008). Não parece existir uma relação clara entre os níveis plasmáticos do NVP e hepatotoxicidade ou doença cutânea relacionados com este (Kappelhoff *et al.*, 2005). Os fatores de risco chave para o desenvolvimento de hepatotoxicidade associada com *rash* parecem ser o tratamento com NVP, o sexo feminino e uma maior contagem base de células CD4. Um aumento do risco foi observado em mulheres com uma contagem base de células CD4+ >250 células/mm<sup>3</sup> e homens com CD4+ >400 células/mm<sup>3</sup> (Dieterich *et al.*, 2004).

#### 5.2.2.3.2.1. Estudos realizados

Um estudo realizado por Martin *et al.* (2005), relatou uma associação entre o HLA-DRB1\*0101 e o desenvolvimento de hepatotoxicidade pelo NVP em pacientes, predominantemente caucasianos, com percentagens de células CD4+ superiores a 25%. Neste estudo, a ocorrência de um *rash* isolado não estava associada às percentagens de células CD4+ ou ao HLA-DRB1\*0101. Num outro relatório feito por Vitezicaa *et al.* (2008), o aparecimento de *rash* isolado, em pacientes caucasianos sujeitos a terapia pelo EFV ou NVP, foi associada à presença de HLA-DRB1\*0101, mas não às percentagens de células CD4+. Neste estudo, 83% dos participantes que apresentaram *rash* isolado, eram HLA-DRB1\*0101 positivos quando comparados com os 7% no grupo tolerante. Estes estudos juntam peso à sugestão de que existem diferentes mecanismos subjacentes ao *rash* isolado e à hepatotoxicidade na reação de hipersensibilidade ao NVP (Tozzi, 2010). Outros estudos indicaram que o HLA-Cw8 como um importante previsor da hipersensibilidade ao NVP nas populações da Sardenha e do Japão (Littera *et al.*, 2006; Gatanaga, Yazaki, *et al.*, 2007).

Foi elaborada a hipótese por Ritchie *et al.* (2006), que as variantes ABCB1 podem influenciar a concentração intracelular e, como consequência, a toxicidade por NVP. Neste mesmo artigo é realizado um estudo em pacientes que iniciaram a HAART baseado no NVP e descobriram que o polimorfismo C>T na posição 3435 foi significativamente associada ao decréscimo do risco da hepatotoxicidade. A mesma associação entre o polimorfismo ABCB1 3435C>T e o risco reduzido de hepatotoxicidade induzida pela NVP foi confirmada num outro estudo aleatório feito por Haas *et al.* (2006) e que, paralelamente, prosseguiu em afirmar que indivíduos com hepatotoxicidade teriam pelo menos um alelo CYP3A5G na posição 6986A>G.

Os potenciais mecanismos subjacentes à associação genótipo-fenótipo para o polimorfismo ABCB1 3435C>T e a hepatotoxicidade induzida pela NVP são incertos. Embora este SNP não altere a sequência de aminoácidos, Wang *et al.* (2005) formulou a hipótese que pode diminuir a estabilidade do mRNA.

#### 5.2.2.3.3. Dislipidémia

Têm sido relatadas mudanças no metabolismo lipídico, associada com a terapia antirretroviral, em todas as faixas etárias. No entanto, pacientes mais idosos têm uma resposta

imunológica à terapia antirretroviral (ART) e um maior risco de doenças cardio-vasculares, lipodistrofia e dislipidemia. A dislipidemia associada com a terapia antirretroviral é, normalmente, caracterizada pelo aumento das concentrações do colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c), lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e apolipoproteína B (apoB); e baixos níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL-c) (Kamara *et al.*, 2012; Souza *et al.*, 2013). Estas mudanças lipídicas ocorrem dentro de três meses após o início da terapia e estabilizam após seis a nove meses. Foram primeiramente descritas em indivíduos com regimes que contêm inibidores da protease, mas foram mais tarde observados em pacientes cujos regimes consistiam de NRTIs e NNRTIs (Souza *et al.*, 2013).

Foi demonstrado que o perfil lipídico de pacientes seropositivos em ART varia consoante o regime usado. Assim, segundo Souza *et al.* (2013), pacientes tratados com inibidores da protease (com uma dose booster de ritonavir) ou efavirenz, apresentavam um aumento significativo das concentrações totais de colesterol e triglicéridos, enquanto que um aumento dos níveis serológicos de HDL-c foram observados nos que recebiam nevirapine. Num estudo pediátrico, realizado por Shiau *et al.* (2014), em que a autora debruçou-se sobre as diferenças do sexo relacionadas com o surgimento de toxicidade à ART, foi verificado que o sexo feminino tinha um perfil lipídico menos favorável quando comparado com o sexo masculino. A autora defende que as consequências a longo prazo no que respeita aos resultados imunológicos e metabólicos são ainda desconhecidos.

O ABCB1 3435C>T foi relatado como estando associado a menores aumentos do colesterol HDL em pacientes na terapia por EFV (Fellay *et al.*, 2002).

#### 5.2.2.4. Medicação concomitante

Como dito anteriormente, a interação com outros fármacos é também um dos fatores importantes que, tal como os fatores genéticos, podem levar a variações na resposta ao tratamento com antirretrovirais (Kwara *et al.*, 2010). A tuberculose (TB) é a mais comum infeção oportunista que afeta indivíduos seropositivos e permanece a mais comum causa de morte em pacientes com SIDA. Esta co-infeção teve o seu pico em 2005 com cerca de 1.39 milhões de pacientes co-infetados (Luetkemeyer, 2013). Ficou demonstrado que a mortalidade destes pacientes é reduzida quando a HAART é adicionada ao tratamento da tuberculose. No entanto, o acumular de toxicidades, interações entre os fármacos, a sobrecarga de comprimidos a tomar e preocupações em relação ao síndrome inflamatório de

reconstituição imune, levam ao deferir da HAART durante a terapia para a TB (Kwara *et al.*, 2010).

A rifampicina, um componente chave na terapia de curta-duração para a tuberculose, é um potente indutor do receptor pregnane X (PXR), uma proteína xenobiótica que, por sua vez, aumenta a expressão dos CYP3A4 e CYP2B6. Consequentemente, isto leva a um aumento da atividade metabólica reduzindo a sua biodisponibilidade (Cheng *et al.*, 2009). O PXR foi associado à função e atividade dos transportadores de fármacos no fígado, intestinos e rins e desempenha um papel vital na absorção, distribuição e excreção de fármacos (Kwara *et al.*, 2010).

### 5.2.3. Inibidores da Protease

A protease viral do HIV é um dos mais importantes alvos da terapia antirretroviral (Antunes *et al.*, 2014). O desenvolvimento dos inibidores da protease (PIs) foi um dos mais significativos avanços das últimas duas décadas para o controle da infecção pelo HIV (Zha *et al.*, 2013). Os PIs são usados no tratamento de pacientes seropositivos e atuam no estágio final da replicação do vírus ao interferirem com a enzima protease do HIV, que é responsável pela clivagem das poliproteínas virais Gag e GagPol originando as enzimas e estruturas proteicas da partícula viral (Mishra & Shrivastav, 2014).

#### 5.2.3.1. Principais vias metabólicas

Os PIs, entre os quais se encontram o lopinavir (LPV), o nelfinavir (NFV), o darunavir (DRV), o atazanavir (ATV) e o indinavir (IDV), são ambos substratos e inibidores do CYP3A (Bismara *et al.*, 2012). É uma inibição competitiva feita por ligações covalentes em que, ambos o substrato e os produtos da reação, competem pelo centro ativo da enzima (Lin *et al.*, 2000). A inibição das enzimas do CYP3A através de doses baixas (100-400 mg/dia) de ritonavir, um potente inibidor do CYP3A, é administrada juntamente com outros inibidores da protease com vista a elevar os níveis plasmáticos destes. A terapia designa-se então como “reforçada”. O reforço farmacológico dos inibidores da protease leva a diversos resultados desejáveis, tais como:

O elevar da barreira farmacológica ao desenvolvimento da resistência virológica;

O inibidor da protease pode ser administrado em doses mais baixas e com um menor número de comprimidos;

Pode diminuir a frequência de administração, melhorando assim o regime HAART (Elion *et al.*, 2011).

Como visto anteriormente, a glicoproteína-P (ABCB1 ou MDR1) é praticamente omnipresente no corpo humano, sendo expressa pelo fígado, rim, intestino delgado, barreira hematoencefálica, órgãos reprodutores e linfócitos. A variante mais estudada é a – 3435C>T, um SNP sinónimo (Owen, 2006; Khabour *et al.*, 2013). Fellay publicou em 2002, um relatório sobre o impacto das variantes da ABCB1 (3435C>T) na HAART. Neste relatório, indivíduos com o alelo variante tinham níveis mais baixos de nelfinavir.

Os Inibidores da Protease são também substratos da glicoproteína-P (P-gp) e exibem um elevado grau de ligação às proteínas plasmáticas, principalmente à albumina e à alfa-1-glicoproteína ácida (AAG), também conhecida como orosomucóide (ORM1). A importância das variantes CYP3A4 e CYP3A5 no metabolismo dos fármacos dependentes destas isoenzimas não é ainda claro, muito por consequência destes serem também inibidores destas, tornando a perceção do impacto das variantes na expressão ou atividade do CYP3A uma tarefa difícil (Barrail-Tran *et al.*, 2010; Elion *et al.*, 2011; Eyakem, 2013).

As principais características farmacocinéticas do atazanavir são a absorção variável através da via intestinal, 86% de ligação às proteínas plasmáticas: albumina e alfa-1-glicoproteína (AAG), também conhecida como orosomucóide (ORM1), e eliminação que envolve o CYP3A. É presentemente reconhecido que, variações nas concentrações da orosomucóide e albumina devido a infeções patológicas como o HIV, são prováveis de influenciar a farmacocinética dos inibidores da protease. Co-infeções como a hepatite B ou C podem reduzir significativamente a concentração de albumina. A orosomucóide é uma proteína polimórfica e este polimorfismo pode também contribuir para a variabilidade intraindividual da disponibilidade dos inibidores da protease (Barrail-Tran *et al.*, 2010)

O darunavir (DRV) é um potente e bem tolerado inibidor da protease que é licenciado para a terapia de ambos os pacientes “naive” e “não-naive”. A deposição deste antirretroviral no SNC e LCR foi demonstrado ser bastante variável e pode ser influenciada por diversas proteínas transportadoras e metabolizantes presentes na barreira hemato-encefálica. Assim, polimorfismos nos genes que codificam estas enzimas podem contribuir para explicar a

variabilidade na penetração. O DRV foi demonstrado como sendo substrato da P-gp, da OATP1A2 e possivelmente da MRP2, embora o seu efeito na exposição do plasma do líquido céfalo-raquidiano não seja ainda completamente conhecido (Yilmaz *et al.*, 2009; Calcagno *et al.*, 2012).

O lopinavir é metabolizado pelo citocromo P450 3A4 (CYP3A4) e é sujeito a um potente efeito de primeira passagem o que resulta numa muito pobre biodisponibilidade. Assim, o lopinavir é licenciado apenas em combinação com o ritonavir que inibe o CYP3A4 e desta forma aumenta a biodisponibilidade do primeiro. O ritonavir é metabolizado pelo CYP3A4 e a um menor grau, mas ainda assim clinicamente relevante pelo CYP2D6, este último localizado no cromossoma 22 em 22q13.1. A atividade do CYP2D6 demonstra uma muito elevada variabilidade interindividual, primariamente devido a diferenças entre polimorfismos genéticos exibidos pelos pacientes. De notar que, cerca 16% da população africana são metabolizadores ultra-rápidos do CYP2D6, resultando num metabolismo potente e acelerado para substratos desta enzima (Gorny *et al.*, 2010; Yale University, 2014).

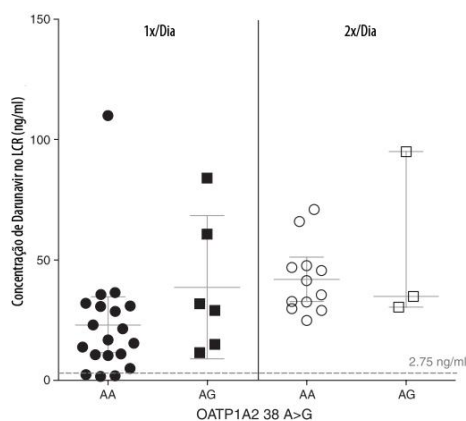
O indinavir (IDV) e o atazanavir (ATV) são utilizados como parte da terapia do HIV. O primeiro, mesmo se não recomendado como terapia inicial, é presentemente ainda usado em pacientes que iniciaram a sua terapia com este PI e mantiveram uma carga viral abaixo do limite de quantificação com um aceitável perfil de segurança. Quando comparado com outros PIs, o indinavir exibe uma elevada penetração em reservas virais tais como os compartimentos genitais e o Sistema Nervoso Central (Bertrand *et al.*, 2009).

#### 5.2.3.2. Determinantes genéticos da eficácia

A relação entre os níveis de plasma dos Inibidores da Protease e os resultados clínicos está bem documentado (Mahungu *et al.*, 2009). Os níveis plasmáticos do saquinavir e indinavir demonstraram ser preditivos de falha virológica. Os achados iniciais que sugeriram que a ABCB1 3435C>T estava associada com uma melhoria dos resultados imunológicos em terapias com Inibidores da Protease, não foram replicadas em estudos subsequentes (Fellay *et al.*, 2002; Haas *et al.*, 2003; Nasi *et al.*, 2003; Verstuyft *et al.*, 2005).

Como já referido, a maioria dos PIs está sujeita ao transporte mediado pela P-gp. Polimorfismos no gene ABCB1 que afetem a atividade da P-gp podem ser o mecanismo subjacente para as variações interindividuais significativas nos níveis plasmáticos dos PIs

(Rodríguez-Nóvoa *et al.*, 2006). Esta autora observou níveis plasmáticos mais baixos de ATV em pacientes com o genótipo TT a receber 400mg deste fármaco quando comparados com pacientes que têm o genótipo CC sob a mesma dosagem. A identificação de pacientes predispostos a desenvolver hiperbilirubinemia provocada pelo ATV tem relevância clínica, na medida em que estes beneficiariam de um ajuste de dosagem e monitorização dos níveis deste fármaco.



**Figura 16- Influência do SNP OATP1A2 38 A>G na concentração do DRV no LCR em terapias de 1x/Dia e 2x/Dia (adaptado de Calcagno *et al.*, 2012).**

Num estudo realizado por Calcagno *et al.* (2012) sobre a implicação da dosagem do DRV e a concentração do mesmo no SNC e LCR foi verificado que, embora SNPs nos genes codificadores para as enzimas envolvidas no transporte deste fármaco (P-gp, OATP1A2 e MRP2) à barreira hemato-encefálica possam potencialmente modular a passagem deste ao LCR, não foi demonstrado um relacionamento significativo. Ainda assim existe a tendência para uma mais baixa exposição ao fármaco no LCR em pacientes com variante AG na proteína transmembranar SLCO1A2. Este SNP leva a um decréscimo na função desta bomba de efluxo quando comparado com as variantes mais comuns. Na figura 16 pode ser vista a influência do SNP OATP1A2 38 A>G na concentração do DRV no LCR em terapias de 1x/Dia e 2x/Dia.

Os níveis plasmáticos de Nelfinavir foram demonstrados como sendo influenciados pelos polimorfismos ABCB1 num estudo realizado por Fellay *et al.* (2002). Estes autores descreveram uma correlação entre os níveis de NFV no plasma e genótipos TT, CT, CC na posição 3435. Concentrações inferiores foram observadas em pacientes com a variante TT. Surpreendentemente, segundo este mesmo estudo, portadores TT possuem uma contagem

superior de células T CD4+ quando sob terapia por NFV, apesar de terem um perfil farmacocinético desfavorável.

Num outro estudo, por Saitoh *et al.* (2005), demonstrou-se que crianças portadoras do polimorfismo ABCB1 3435 em heterozigotia (CT) tinham níveis plasmáticos mais elevados que crianças portadoras dos genótipos CC ou TT. No mesmo estudo, a percentagem de pacientes com resposta virológica à 8ª semana era mais elevada no genótipo CT correspondendo a crianças com níveis plasmáticos de NFV mais elevados. Análogamente, Bellusci *et al.* (2010), dizem ter demonstrado no seu estudo, também com crianças, que os polimorfismos da ABCB1 têm efeitos protetores contra o HIV. A heterozigotia para 3435CT e 1236CT e a homozigotia 1236TT atrasaram significativamente a infeção pelo vírus da SIDA. Não conseguiram, no entanto, demonstrar um efeito protetor para a homozigotia 3435TT, tal como Saitoh, cinco anos antes. Ambos os resultados podem predizer uma vantagem (heterose) em relação à infeção por HIV. Este fenómeno de heterose é comum aos humanos, podendo ocorrer em até 50% de todas as associações genéticas (Bellusci *et al.*, 2010).

Num terceiro estudo de Zhu *et al.* (2004), mediram-se as concentrações intracelulares de linfoblastóides, e examinaram-se os genótipos na posição ABCB1 3435. Encontraram-se uma muito superior concentração de NFV em genótipos TT que em genótipos CC ou CT. Isto foi confirmado por um outro estudo, por Colombo *et al.* (2005), citado por Rodríguez-Nóvoa *et al.* (2006) em que pacientes com o genótipo TT tinham uma mais elevada exposição intracelular que os genótipos CT ou CC. Estes dados apoiam um melhor recobro imune de portadores TT sob terapia NFV.

#### 5.2.3.3. Determinantes genéticos da toxicidade

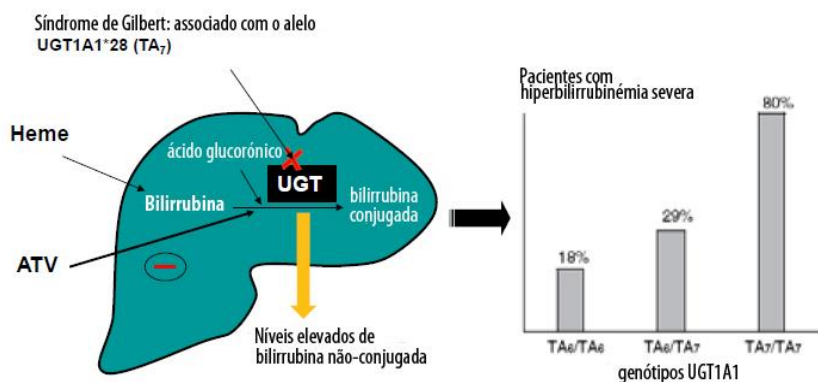
Os inibidores da protease (PIs) formam uma parte integral da HAART e os efeitos secundários incluem o desenvolvimento de dislipidemia, como visto anteriormente. Este aumento de produção de triglicéridos plasmáticos e lípidos junto com um perfil de colesterol adverso, promovem a inflamação, stressam o miocárdio e podem potencialmente levar à resistência à insulina e à disfunção cardíaca (Reyskens *et al.*, 2013).

### 5.2.3.3.1. Hipertrigliceridemia

Estudos feitos por Tarr *et al.* (2005) em colaboração com o Swiss HIV Cohort Study (www.shcs.com, s.d.), determinaram que indivíduos com isoformas apoE pouco favoráveis ( $\epsilon 2$  ou  $\epsilon 4$ ), bem como, mais do que duas das variantes da apoC3 (-482C>T, -455T>C, 3238C>G), foram observados como tendo uma significativa hipertrigliceridemia (>6 mmol/L), se estiverem sob terapia antirretroviral contendo ritonavir.

Estes achados foram incorporados num algoritmo de dosagem onde os pacientes receberiam uma dose baseada no genótipo composto por ABCA1/APOA5/APOC3/APOE/CETP e o tipo de terapia antirretroviral a que estavam submetidos, explorando assim o potencial para o mapeamento de genótipos preditivos. Estes estudos longitudinais foram realizados em coortes predominantemente caucasianos o que torna os resultados encontrados possivelmente não aplicáveis a todas as populações (Tarr *et al.*, 2005).

### 5.2.3.3.2. Hiperbilirrubinemia não-conjugada



**Figura 17 - Metabolismo hepático da bilirrubina e potenciais mecanismos de interferência do atazanavir (ATV). A uridina difosfato glucuroniltransferase 1A1 (UGT1A1) é a enzima do fígado que conjuga a bilirrubina. A inserção de um dinucleótido extra (TA) no gene promotor da UGT1A1 resulta num decréscimo da atividade enzimática. O ATV inibe a UGT1A1, que por sua vez resulta em hiperbilirrubinemia (adaptado de Álvarez Barco & Nóvoa, 2013).**

O ATV é conhecido por causar hiperbilirrubinemia indireta ao inibir a enzima UGT1A1, que é responsável pela conjugação da bilirrubina no fígado afim de ser eliminada do corpo (Figura 17). Cerca de 20%-50% dos pacientes expostos ao ATV podem desenvolver hiperbilirrubinemia que pode ser severa em cerca de 6% dos casos. Este risco de

hiperbilirrubinemia encontra-se aumentado em presença do alelo UGT1A1\*7 (Rodríguez-Nóvoa *et al.*, 2006; Álvarez Barco & Nóvoa, 2013).

#### 5.2.3.3.2.1. Estudos realizados

No já previamente referido estudo de Luborimov *et al.* (2011) o atazanavir foi administrado conjuntamente com ritonavir em 121 pacientes, 30 dos quais descontinuaram o tratamento durante o primeiro ano com uma taxa cumulativa de 25%. A homozigotia dos alelos da função diminuída UGT1A1 (\*28/\*28 ou \*28/\*37), foi associada com o risco de descontinuação do tratamento sendo estas taxas, para o primeiro ano, de 62,5% para homozigotos (\*28/\*28 ou \*28/\*37), 23,8% para heterozigotos (\*1/\*28 ou \*1/\*37) e 14,6% em indivíduos não portadores (\*1/\*1) (Ribaudó *et al.*, 2013). Os resultados encontram-se sumarizados na tabela 7.

**Tabela 7 - Taxas cumulativas de descontinuação utilizando o Modelo de Regressão de Cox (Lubomirov *et al.*, 2011)**

Fármaco	SNP	Genótipo	Taxa Cumulativa de Descontinuação
Atazanavir	UGT1A1 rs8175347	*1/*1 (Referência)	14.60
		*1/*28, *37	23.80
		*28/*28, *37	62.50

Cerca de 3-10% da população tem a atividade da UGT1A1 diminuída em cerca de 30%, o que é conhecido como síndrome de Gilbert, sendo a principal característica deste síndrome, hiperbilirrubinemia assintomática (Yamamoto *et al.*, 1998). Esta condição genética, é associada ao alelo variante UGT1A1\*28 e é uma desordem hereditária que leva a hiperbilirrubinemia não-conjugada. O alelo \*28 contém sete repetições do dinucleótido TA (TA<sub>7</sub>), em vez das seis (TA<sub>6</sub>) típicas do alelo comum, UGT1A1\*1. Neste contexto, os níveis plasmáticos de bilirrubina são ainda mais aumentados nos pacientes em ATV, quando o alelo UGT1A1\*28 está presente (Álvarez Barco & Nóvoa, 2013). Isto vem confirmar as observações de O'Mara *et al.* (2003) quando apresentou o seu estudo sobre “Genetic factors in protease inhibitor hyperbilirubinemia” no 43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy e declarou que os níveis de bilirrubina eram significativamente mais elevados em pacientes com TA<sub>7</sub> sob terapia com ATV (Anderson *et al.*, 2006). Hiperbilirrubinemia induzida pelo IDV manifesta-se primariamente em pacientes que possuem o alelo de Gilbert, enquanto que esta toxicidade é mais frequente com o ATV,

mesmo na ausência desta condição genética, principalmente quando reforçado com o ritonavir (Ribaud *et al.*, 2013).

A hiperbilirrubinemia não conjugada, o principal efeito secundário do atazanavir, como já discutido, é amplamente considerada irrelevante no cuidado clínico. É um fenômeno reversível onde a maioria dos pacientes possui elevados valores laboratoriais mas sem qualquer evidência de *scleral icterus* (esclerótica icterica) (Lubomirov *et al.*, 2011). No entanto, apesar do seu caráter reversível e ausência de consequências clínicas, dois terços dos pacientes homozigóticos para a variante promotora do UGT1A1 descontinuaram o tratamento de acordo com o estudo elaborado pelos mesmos autores como pode ser visto na tabela 7.

O mecanismo subjacente é semelhante ao do síndrome de Gilbert onde a homozigotia para a UGT1A1\*28/\*28 confere um decréscimo na expressão hepática do UGT1A1 (família da UDP-glucuronosiltransferase1, polipéptido A1), quando comparado com o alelo \*1. Isto resulta num aumento da bilirrubina plasmática que não reflete lesão hepática mas sim “apenas” um decréscimo da clearance da bilirrubina do plasma, mas que ainda assim causa icterícia (Schackman *et al.*, 2014).

### 5.3. Outras classes de antirretrovirais

Durante a última década, pacientes que não obtinham resultados ou que não toleravam os seus regimes antirretrovirais, beneficiaram do aumento do número destes agentes, desde classes já existentes a outras novas. Atualmente existem antirretrovirais licenciados de três novas classes – enfuvirtide (inibidor de fusão), maraviroc (antagonista CCR5) e raltegravir (inibidor da integrase) (Rakhmanina & van den Anker, 2010; Murray *et al.*, 2011).

#### 5.3.1. Inibidores de fusão

Recentemente, o envelope glicoproteico foi sublinhado como um importante alvo alternativo para o desenvolvimento de novos fármacos antirretrovirais (Jang *et al.*, 2014). Como já referido no capítulo 3, esta glicoproteína é expressa como uma poliproteína e que é subsequentemente clivada em duas sub-unidades, gp120 e gp 41 (Lin *et al.*, 2001).

O inibidor de fusão enfuvirtide (ENF; T-20) é um péptido sintético de 36 aminoácidos que mimetiza os resíduos do domínio da gp41 codificada pelo *env* como foi visto no capítulo

“Genes e tropismo do HIV”. O mecanismo de inibição propõem-se a bloquear a entrada do HIV-1 na célula hospedeiro (Reis & Alca, 2014).

Apesar das, mais estáveis, características da gp41 quando comparada com a gp120, mutações na gp41 podem afetar a entrada do HIV-1, a patogenicidade e resistência ao inibidor de fusão ENF (Jang *et al.*, 2014).

#### 5.3.1.1. Estudos realizados

O teste Apolo levado a cabo por Joly *et al.* (2013) foi o primeiro teste aleatório a avaliar o efeito da intensificação da terapia antirretroviral com enfurvitide em pacientes infectados com HIV-1 em estados avançados da doença. Este estudo, feito com um número total de pacientes inscritos de 195, não mostrou uma diferença entre o grupo de controle e o grupo submetido a terapia intensificada. Após seis meses de terapia, estes autores afirmaram não ter observado nenhuma tendência de uma melhor resposta CD4 em pacientes com uma contagem inicial de células CD4  $\leq 50$ , entre 50 e 100 e  $\geq 100/\text{mm}^3$ .

Estes resultados diferem dos encontrados num estudo efetuado por Bonora *et al.* (2012) em que a adição de enfuvirtide à terapia antirretroviral na fase inicial do tratamento resultou numa melhor contagem de células CD4. Esta discrepância pode ser, possivelmente em parte, explicada pela diferença no número total de pacientes estudados, em que o estudo de Bonora contava apenas com 22 pacientes (11 por grupo) e o de Joly *et al.* (2013), como dito anteriormente, com um total de 195 pacientes (101 para o grupo de teste e 94 no grupo de controle).

A eficiência da restrição da replicação do HIV por parte do T-20 foi defendida por Pessoa *et al.* (2011), embora apontem que diversas mutações de resistência têm sido relatadas na região heptad repeat 1 (HR1) da gp41. tais como: G36D, I37V, V38A/M/E, Q40H, N42S/T/D, N43D, L44M, L45M e N42D/V38A.

A resistência ao T-20 é bastante aumentada por uma mutação combinada na região HR2 (N126K, E137K, S138A). Estas mutações permitem a persistência da replicação viral em pacientes sob tratamento com T-20 (Shimura *et al.*, 2010; Maeda *et al.*, 2011)

### 5.3.2. Antagonistas CCR5

O antagonista CCR5 maraviroc (MVC), o único antagonista CCR5 licenciado para uso clínico, inibe a entrada do HIV-1 na célula do hospedeiro ao ligar-se a este receptor, alterando os “loops” extracelulares deste, tornando-os irreconhecíveis à glicoproteína gp120 do envelope (Env), prevenindo a interação desta com a célula do hospedeiro (Roche *et al.*, 2013; Gulick *et al.*, 2014).

Numa reunião colaborativa levada a cabo pela FDA e a FCHR foram levantadas preocupações em relação às potenciais consequências imunológicas de bloquear o co-receptor humano CCR5 (Fry, 2006). Estas preocupações foram ainda mais reforçadas por relatórios de um aumento na frequência de malignidades observado em pacientes em tratamento com vicriviroc. Segundo os mesmos relatórios, este outro antagonista CCR5 sob investigação, pode mesmo conduzir a resultados nefastos, incluindo mortalidade, em pacientes com a mutação CCR5 $\Delta$ 32, após infecções com determinadas viroses, incluindo febre do Nilo e febre amarela (Gulick *et al.*, 2007). Isto é particularmente alarmante se pensarmos que em indivíduos infetados com o HIV, esta deleção, como visto anteriormente no capítulo 2, está associada a uma reduzida progressão do HIV e ainda com um reduzido risco de contração de certas infecções oportunistas (Knight, 2009; Wolstein *et al.*, 2014).

#### 5.3.2.1. Estudos realizados

Hardy *et al.* (2010) e Gulick *et al.* (2014) publicaram estudos realizados ao longo de 2 e 5 anos, respetivamente, destinados a averiguar os efeitos secundários da terapia com o maraviroc (MVC) onde não se revelam quaisquer excessos de infeções ou doenças malignas. David Cooper *et al.* (2014) realizaram o seu próprio estudo que é o culminar de 5 anos de investigação própria, em conjunto com os dados recolhidos dos dois outros estudos previamente citados. Assim, Cooper *et al.* reclamam que o seu estudo providencia os efeitos a longo prazo do bloqueio do receptor CCR5 em que não é detetada uma maior frequência de doenças malignas ou infeções.

Os efeitos farmacocinéticos *in vivo* e *in vitro* na presença de outros antirretrovirais e medicações HIV-1 é uma importante consideração à luz da necessidade de uma terapia altamente eficaz (HAART) com um reduzido surgimento de resistências. Diversos estudos *in vitro* demonstram que o maraviroc não é antagonista dos atualmente existentes agentes

antirretrovirais e dos dados recolhidos *in vivo* não revelam uma interação antagonista com outros fármacos não afetando assim a farmacocinética de potenciais comedições (Dorr *et al.*, 2005).

A eficácia do maraviroc foi confirmada através da fase III de um teste clínico denominado como MOTIVATE (Maraviroc versus Optimal Therapy In Viremic Antiretroviral Treatment-Experienced patients). Os pacientes elegíveis tinham já dado mostras de resistência a fármacos antirretrovirais das três principais classes ou eram experientes em todas elas. Apresentavam também níveis plasmáticos de RNA viral superior a 5.000 cópias/ml. Os pacientes foram aleatoriamente divididos em 3 grupos: um dos grupos recebeu uma única dose diária de 300mg de maraviroc, outro duas doses diárias e o terceiro um placebo. Todos os pacientes receberam também um regime individual otimizado baseado na resistência desenvolvida e historial de tratamento (Kuritzkes, 2009).

O teste concluiu que o aumento de células CD4+ foi significativamente maior nos pacientes que recebiam uma ou duas doses diárias de MVC quando comparados com o grupo placebo. Este maior aumento de células CD4+, com a redução dos níveis plasmático de RNA viral para valores inferiores a 50 cópias/ml, foi associado a uma redução do risco de contração de infeções oportunistas (Asmuth *et al.*, 2010). Não existem indícios do aumento do risco de malignidades ou febre do Nilo nos pacientes sob terapia com maraviroc, uma preocupação sempre presente devido ao bloqueio do receptor CCR5 e consequente diminuição da vigilância imunitária (MacArthur & Novak, 2008). Houve, contudo o desenvolvimento de resistência por parte de dois pacientes.

**Tabela 8 – Número de cópias virais e de células CD4 de ambos os pacientes 17 e 24 durante o teste clínico com maraviroc (MVC). Pode ser observada a falha virológica para ambos os pacientes no decorrer do teste. (adaptado de Flynn *et al.*, 2013).**

Paciente 17			Paciente 24		
Dias após MVC	Carga Viral (cópias/ml)	Células CD4 (células/ $\mu$ )	Dias após MVC	Carga Viral (cópias/ml)	Células CD4 (células/ $\mu$ )
-6	75800	N/D	-6	179000	N/D
1	45500	177	1	214000	4
15	68600	189	15	1860	8
29	45400	167	29	158	19
57	653	262	57	497	16
85	82	289	85	14400	10
117	4590	312	117	44100	59
140	2660	333	140	66100	56
169	12600	224	169	143000	26

Na fase III deste mesmo teste clínico, dois pacientes desenvolveram falha virológica, referidos como pacientes 17 e 24 (tabela 8). Esta falha virológica deveu-se ao desenvolvimento de uma resistência ao maraviroc *in vivo* durante a duração do teste clínico. Os Env de ambos os pacientes foram isolados previamente ao teste clínico e também após a falha virológica. Estes Env foram definidos como 17-Sens e 24-Sens para os Env retirados antes do início do teste clínico e 17-Res e 24-Res para os Env recolhidos após falha virológica (Roche *et al.*, 2013).

**Tabela 9 – Fenótipos de resistência ao maraviroc (MVC) dos Env recolhidos antes e após a falha virológica dos pacientes 17 e 24 (adaptado de Roche *et al.*, 2013).**

Env	Fenótipo de Resistência ao MVC
17-Sens	Sensível
17-Res	Fraca Resistência
24-Sens	Sensível
24-Res	Forte Resistência

Os Env dos pacientes 17 e 24 recolhidos antes do início do teste clínico, exibem ambos sensibilidade ao MVC enquanto que o 17-Res e o 24-Res revelam níveis de resistência diferentes. Existe assim um leque de resistências possíveis por parte dos Env ao maraviroc (tabela 9). A resistência ao MVC é caracterizada não por mudanças na IC<sub>50</sub>, mas sim por patamares nas curvas de inibição do vírus que não atingem os 100% de inibição, o que indica um mecanismo de resistência não competitivo (Flynn *et al.*, 2013). Embora o MVC, como dito anteriormente seja o único antagonista CCR5 aprovado para uso clínico, outros antagonistas do CCR5 estão presentemente a ser desenvolvidos. A compreensão e análise da interação entre a proteína Env e o MVC pode ajudar no desenvolvimento de novos antagonistas CCR5 sem que hajam resistências cruzadas com estes de primeira geração (Kondru *et al.*, 2008).

### 5.3.3. Inibidores da integrase

Os inibidores da integrase formam uma nova classe de fármacos no tratamento de pacientes com HIV-1, dos quais o raltegravir (RAL) é um exemplo (Van der Borght *et al.*, 2013; Eron *et al.*, 2013). Outros, como o Elvitegravir (EVG) e o S/GSK1349572 estão num estadio avançado de desenvolvimento clínico (Blanco *et al.*, 2011). Os inibidores da integrase atuam bloqueando a integração do genoma do HIV no DNA das células do hospedeiro, que é

o mecanismo que, como visto no capítulo 2, estabelece a infecção para o resto da vida (Howard Hughes Medical Institute, 2007; Aids Info, 2013; Eron *et al.*, 2013).

Como visto anteriormente para todas as classes de antirretrovirais já descritas, é um facto bem aceite que o HIV pode ultrapassar a terapia farmacológica através do desenvolvimento de mutações de resistência. Os dados clínicos indicam que já surgiram vírus resistentes à primeira geração de inibidores de integrase (RAL e EVG) (McColl *et al.*, 2007; Marinello *et al.*, 2008).

#### 5.3.3.1. Estudos realizados

Num estudo conduzido por Feng *et al.* (2013), a substituição IN A128T foi identificada em testes de culturas celulares como o principal mecanismo de resistência do HIV-1 aos inibidores alostéricos da integrase. A substituição da alanina pela treonina, afeta o posicionamento da quinolina central e do anel fenil dos inibidores alostéricos da integrase. Como resultado, a substituição A128T mostra uma marcada resistência a esta classe de antirretrovirais quando comparada com as respetivas contrapartes “wild-type” (Feng *et al.*, 2013).

Numa colaboração entre Shionogi e GlaxoSmithKline foi criado o S/GSK1349572, ainda em desenvolvimento, que tem demonstrado ser altamente ativo contra ambos o HIV “wild-type” e muitos mutantes resistentes aos inibidores da integrase como o RAL e que aparenta ter uma maior barreira genética à resistência quando comparado com os INIs de primeira geração (Sato *et al.*, 2009).

Num outro estudo laboratorial, realizado por Kobayashi *et al.* (2011), utilizando DNA de células MT-4 infetadas com HIV, replicado por plasmídeos. Este DNA, quer de HIV “wild-type”, quer de mutações já conhecidas e demonstradas como resistentes, foi utilizado para comparar a resistência do S/GSK1349572 com as de outros antirretrovirais. Este estudo demonstrou que o inibidor da integrase S/GSK1349572, demonstrou eficácia comparável ao HIV “wild-type”, contra cinco estirpes de HIV resistentes a NNRTIs ou NRTIs disponíveis no mercado. Da mesma forma, demonstrou também ser eficaz contra duas estirpes de HIV resistentes a PIs, atingindo, também, uma atividade equivalente à da contra o HIV “wild-type”. Elevada resistência foi desenvolvida por parte de algumas estirpes como a M184V e a Q148K, e observada, respetivamente, no dia 14 à lamivudina e no dia 28 ao raltegravir. Em

contraste, segundo o mesmo estudo, nenhum mutante altamente resistente foi isolado na presença de S/GSK1349572, mesmo após o dia 112.

Estes estudos de resistência comparativa deixam resultados promissores para o controle do HIV em pacientes que já exibiram falha virológica com outros antirretrovirais.

## 6. Perspetivas Futuras

A variabilidade genética humana é responsável por uma larga parte das respostas inter-individuais aos fármacos antirretrovirais (Parathyras *et al.*, 2009). Um cenário farmacogenético ideal envolveria a determinação prévia do perfil genético do paciente e, baseado no resultado deste teste, seria efetuada a prescrição do fármaco ideal, na dosagem ideal de forma a maximizar a eficácia e minimizar a toxicidade, tornando cada terapia feita à medida para cada paciente (Hughes *et al.*, 2004; Schwartz & Iyengar, 2005).

Um dos primeiros estudos feitos sobre a hipersensibilidade ao abacavir por Simon Mallal *et al.* (2002) em que era estabelecida uma relação entre esta e o HLA-B\*5701, gerou uma série de comentários e investigações sobre a eficácia de custo que a previsão de uma reação de toxicidade teria (Hughes *et al.*, 2004). O resumo deste estudo pode ser visto na tabela 10. Muitos autores, senão todos, parecem concordar que seria eficiente em termos de custo os testes de previsão antes de se iniciar a terapia ao HIV (Amalio Telenti *et al.*, 2002; Hughes *et al.*, 2004; Schackman *et al.*, 2008).

**Tabela 10 - Os custos principais considerados na análise da eficácia de custos incluem: (a) os custos de suprimento mensal de regimes HAART; (b) os custos de toxicidade e (c) os custos para o teste da pesquisa de HLA B\*5701 (Schackman *et al.*, 2008).**

Variável	Custo base	Intervalo Avaliado
<b>Regimes HAART (Custo por mês em dólares)</b>		
Primeira Linha: abacavir / lamivudine + efavirenz	\$ 1135	1129 - 1139
Primeira linha: tenofovir / emtricitabine / efavirenz	\$ 1139	-
Primeira linha: zidovudina / lamivudina	\$ 1081	-
<b>Custos de Toxicidade (em dólares) – Reação de hipersensibilidade ao abacavir</b>		
Reação de hipersensibilidade baixa	\$ 105	53 – 210
Reação de hipersensibilidade severa	\$ 3566	1783 – 7132
Reação de hipersensibilidade fatal	\$ 31.999	15.999 – 63.998
Teste para o HLA B*5701 (Custo por teste)	\$ 68	68 - 341

Phillips e Mallal (2008) definem um conjunto de condições para que um teste farmacogenético tenha sucesso na sua integração na prática clínica diária, entre os quais:

O teste tem de ser clinicamente relevante - geralmente mais aplicável a fármacos que requerem tratamento a longo prazo cuja toxicidade não é prontamente previsível por outros meios, com variabilidade interindividual significativa e os relacionamentos farmacocinéticos/farmacodinâmicos são consistentes;

Dados clínicos e sobre eficácia de custo que suporte reembolso – O teste deve ter em vista o evitar da morbilidade do paciente e o poupar de recursos em terapias falhadas;

Sistema que garanta que a amostra de sangue correta vá para o laboratório correto;

Manutenção da integridade da amostra e dos dados;

Teste sólido;

Relatório rápido e de simples interpretação;

A informação necessita de ser transmitida a, retida e agida pela equipa de saúde (médicos, farmacêuticos, enfermeiros) e pacientes.

Algumas das características referidas acima foram também salientadas por Mahungu *et al.* (2009), tais como: um efeito fenotípico deve ter um componente genético significativo para um teste positivo a fim de ter qualquer utilidade clínica e que, além disso, o fenótipo descrito tem de ser bem caracterizado e de irreversível ou sério significado clínico. Estes autores vão ainda mais longe e caracterizam, do ponto de vista clínico, os efeitos adversos de maior preocupação como sendo os síndromes de hipersensibilidade farmacológica idiossincrática, vistos no abacavir e no nevirapine.

Em 2008 foi feito o primeiro teste prospetivo de determinação farmacogenética com o intuito de reduzir os efeitos adversos dos fármacos, intitulado PREDICT-1 (CNA106030).

O estudo PREDICT-1 foi um estudo clínico em dupla ocultação que contou com 1956 pacientes através de 256 localizações através da Europa e Austrália e foi desenhado para examinar a utilidade clínica da prospeção pelo HLA-B\*5701. Este estudo, cujos pacientes em análise eram predominantemente caucasianos, deu um valor preditivo negativo com precisão em 100% dos casos, sugerindo que a prospeção genética pode eliminar a hipersensibilidade ao abacavir mediada imunologicamente e fortemente apoiando a sua implementação na prática clínica de rotina (Phillips & Mallal, 2008). O HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America lançou este presente ano uma atualização do

protocolo de como lidar com pacientes infetados com o HIV. Nesta atualização, a prospeção pelo HLA-B\*5701, é “fortemente recomendada” na base de existirem “indícios de elevada qualidade”. Vão ainda mais longe, determinando que, caso o indivíduo seja positivo para este gene, tem elevado risco de hipersensibilidade para uma terapia com o abacavir (Aberg *et al.*, 2014).

## **7. Conclusão**

A ainda grande quantidade de informação que necessita de ser investigada e compreendida em relação às possíveis interações entre genótipos, farmacocinética e farmacodinâmica dos antirretrovirais, deixa um longo caminho a percorrer antes de uma aplicação da farmacogenética à prática clínica corrente.

As variantes genéticas apresentam-se como grandes responsáveis pela variabilidade inter-individual, no que respeita à eficácia do tratamento antirretroviral e no surgir de reações adversas. Na farmacogenética, os SNPs mais estudados são os dos genes envolvidos no transporte, metabolismo e reações de hipersensibilidade dos fármacos uma vez que são as mutações chave que influenciam a farmacocinética, a farmacodinâmica e, naturalmente, a toxicidade. Esta última, a principal responsável pela descontinuação da terapêutica.

Como exemplos de SNPs nos genes de transporte, temos os que ocorrem na glicoproteína-P e que influenciam a biodisponibilidade de alguns antirretrovirais, como os NNRTIs e os Inibidores da Protease, e a sua distribuição tecidual. Na glicoproteína-P, a variante do mais estudada é a ABCB1 3435C>T, associada a uma redução da falha virológica em pacientes sob terapia com Efavirenz. O senso comum diz que quando um SNP responsável pela descontinuação de um fármaco se apresenta em homozigotia, as chances de toxicidade deste aumentam grandemente. No entanto isto nem sempre é verdade, o que prova que “lógica” e “senso comum” podem não ser aplicáveis. Como exemplo, ainda dentro das proteínas transportadoras temos um estudo realizado sobre o gene ABCC4 rs899494 com o SNP C>T e o tenofovir. Neste estudo, indivíduos com um alelo de risco (CT) apresentavam maior taxa de descontinuidade que indivíduos homozigóticos (TT).

Variações genéticas nas proteínas de transporte MRP4 e MRP2, estão associadas aos níveis intracelulares de alguns NRTIs, podendo conduzir a resistências aos fármacos e a

efeitos adversos como o desenvolvimento de tubulopatia renal na presença de tenofovir em indivíduos com o SNP MRP2 1249G>A.

De entre as proteínas do metabolismo, o complexo citocromo P450 é o mais importante. Responsável pela metabolização de quase todos os xenobióticos, SNPs nesta superfamília, vão influenciar grandemente a farmacocinética e a farmacodinâmica dos antirretrovirais. Segundo alguns estudos reunidos através desta análise bibliográfica pode-se concluir que, não há uma relação estabelecida entre os polimorfismos genéticos do CYP450 e a disposição dos NRTIs, ao contrário dos NNRTIs e dos PIs. Das subfamílias deste vasto complexo, as mais estudadas são: CYP2B6, CYP3A5 e CYP3A4 pois são elas as mais influentes no metabolismo da maioria dos antirretrovirais licenciados. O SNP CYP2B6 516G>T encontra-se presentemente associado à toxicidade no sistema nervoso central causada pelo efavirenz, um dos fármacos antirretrovirais mais utilizados como primeira linha de tratamento inicial.

O Complexo de Histocompatibilidade Major possui dois locus que são fontes de previsibilidade de hipersensibilidade quer para um NRTI, o abacavir, quer para um NNRTI, o nevirapine. O locus HLA-B, o mais polimórfico de todos os genes humanos, que apresenta mais de 250 alelos, possui um haplótipo, HLA-B\*5701, que é o responsável pela reação de hipersensibilidade ao abacavir. O HLA-DRB1\*0101, quando presente, resulta em reações de hipersensibilidade ao nevirapine. Polimorfismos no genoma mitocondrial podem alterar a eficiência da fosforilação oxidativa e produção de energia celular, quando na presença de certos NRTIs, podendo desencadear toxicidade levando ao desenvolvimento de neuropatia periférica.

Numa tentativa de potenciar a eficácia e contornar resistências, novas classes de antirretrovirais, como os inibidores de fusão, os antagonistas CCR5, e os inibidores da integrase, tornam-se hoje no pináculo da luta contra o HIV, revelando novas abordagens à terapia antirretroviral. Os antagonistas de CCR5, ao contrário de outros compostos utilizados como terapia antirretroviral, atuam nas próprias células do hospedeiro a fim de inibir a entrada do vírus. Este modo de agir do fármaco arrasta consigo algumas preocupações intrínsecas e, segundo alguns autores mas não todos, pode tornar determinados indivíduos/pacientes que tenham a mutação CCR5Δ32 mais susceptíveis a infeções oportunistas, podendo mesmo levar à morte.

A aplicação prática da farmacogenética é frequentemente difícil uma vez que, na maioria dos casos, não existe uma correlação uniforme entre os polimorfismos e os níveis plasmáticos dos fármacos, os efeitos secundários destes e/ou a atividade viral. Cada fármaco antirretroviral pode interagir com numerosos alvos, tais como, proteínas transportadoras ou enzimas metabolizantes. Isto observa-se com recorrência em indivíduos étnicamente diferentes, sendo fortes candidatos aos testes preditivos, pois poderiam beneficiar de regimes com maior durabilidade e minimizada resistência aos fármacos, aumentando a resposta terapêutica com a diminuição dos efeitos secundários.

A promessa de uma terapêutica customizada para cada paciente com vista a diminuir custos e reduzir a morbilidade, torna, no entanto, este campo em algo aliciante e com implicações demasiado profundas e importantes para ser ignorado. No entanto, a complexidade das terapias, o demasiado número de perguntas por responder e a, por vezes, fraca consistência de resultados encontrados – alguns deles contraditórios – leva ao ainda não completo reconhecimento da farmacogenética como capaz de prever reações de hipersensibilidade e efeitos adversos numa multiterapia como a HAART. Ainda assim é um campo bastante recente e em grande expansão, principalmente nos últimos anos onde cada vez mais estudos e artigos têm visto a luz do dia com resultados promissores, embora seja ainda prematuro uma implementação generalizada no protocolo clínico de rotina.

## 8. Bibliografia

- Abdelhady, a M. et al., 2014. Population pharmacogenetic-based pharmacokinetic modeling of efavirenz, 7-hydroxy- and 8-hydroxyefavirenz. *Journal of clinical pharmacology*, 54(1), pp.87–96. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24142869> [Accessed March 1, 2014].
- Aberg, J. a et al., 2014. Primary Care Guidelines for the Management of Persons Infected With HIV: 2013 Update by the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 58(1), pp.e1–e34. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24235263> [Accessed January 23, 2014].
- Aids Info, 2013. HIV Life Cycle. Available at: <http://aidsinfo.nih.gov/>.
- Altman, R.B., Flockhart, D. & Goldstein, D.B., 2012. *Principles of Pharmacogenetics and Pharmacogenomics*, Cambridge University Press.
- Álvarez Barco, E. & Nóvoa, S.R., 2013. The Pharmacogenetics of HIV Treatment: A Practical Clinical Approach. *Journal of Pharmacogenomics & Pharmacoproteomics*, 04(01), pp.1–10. Available at: <http://www.omicsonline.org/2153-0645/2153-0645-4-116.digital/2153-0645-4-116.html> [Accessed May 31, 2014].
- Amalio Telenti, Vincent Aubert, F.S., 2002. Individualising HIV treatment—pharmacogenetics and immunogenetics. *The Lancet*, 359, pp.722–723.
- Anderson, P.L. et al., 2006. Pharmacogenetic Characteristics of Indinavir, Zidovudine, and Lamivudine Therapy in HIV-Infected Adults: A Pilot Study. , 42(4), pp.441–449.
- Anderson, P.L., Kakuda, T.N. & Lichtenstein, K. a, 2004. The cellular pharmacology of nucleoside- and nucleotide-analogue reverse-transcriptase inhibitors and its relationship to clinical toxicities. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 38(5), pp.743–53. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14986261>.
- Andrade, F.M. De et al., 2010. Influence of Genetic Combinations on HDL-C Levels in a Southern Brazilian Population. , pp.430–435.
- Antunes, D. a et al., 2014. New Insights into the In Silico Prediction of HIV Protease Resistance to Nelfinavir. *PloS one*, 9(1), p.e87520. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3909182&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed February 23, 2014].
- Arab-Alameddine, M. et al., 2009. Pharmacogenetics-based population pharmacokinetic analysis of efavirenz in HIV-1-infected individuals. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 85(5), pp.485–94. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19225447> [Accessed August 3, 2012].
- Arnedo, M. et al., 2007. Contribution of 20 single nucleotide polymorphisms of 13 genes to dyslipidemia associated with antiretroviral therapy. *Pharmacogenetics and genomics*, 17(9), pp.755–64. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17700364>.
- Arrildt, K.T., Joseph, S.B. & Swanstrom, R., 2013. The HIV-1 Env Protein: A Coat of Many Colors. *National Institutes of Health - Public Access*, 9(1), pp.52–63.
- Asmuth, D.M. et al., 2010. CD4+ T-cell restoration after 48 weeks in the maraviroc treatment-experienced trials MOTIVATE 1 and 2. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*, 54(4), pp.394–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20009949>.
- Averting with HIV and AIDS, 2013. Universal Access to HIV Treatment. Available at: <http://www.avert.org/universal-access-hiv-treatment.htm> [Accessed July 6, 2014].
- Barbarino, J.M., Abacavir Pathway, Pharmacokinetics/Pharmacodynamics. *PharmGkb*. Available at: <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA166104634> [Accessed June 24, 2014].

- Barrail-Tran, A. et al., 2010. Influence of alpha-1 glycoprotein acid concentrations and variants on atazanavir pharmacokinetics in HIV-infected patients included in the ANRS 107 trial. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(2), pp.614–9. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2812179&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed May 31, 2014].
- Barrios, A. et al., 2004. Tenofovir-related nephrotoxicity in HIV-infected patients. *Correspondence*, 18(6), pp.959–968.
- Bellusci, C.P. et al., 2010. MDR1 3435T and 1236T alleles delay disease progression to pediatric AIDS but have no effect on HIV-1 vertical transmission. *AIDS (London, England)*, 24(6), pp.833–40. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20124970> [Accessed February 23, 2014].
- Bertrand, J. et al., 2009. Influence of pharmacogenetics on indinavir disposition and short-term response in HIV patients initiating HAART. *European journal of clinical pharmacology*, 65(7), pp.667–78. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2908290&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed August 3, 2012].
- Bhise, N. et al., Lamivudine Pathway, Pharmacokinetics/Pharmacodynamics. *PharmGkb*. Available at: <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA165860384> [Accessed June 24, 2014].
- Bismara et al., 2012. Antiretroviral Drug Resistance in Brazilian Children Infected by Human Immunodeficiency Virus Type 1. *Journal of Antivirals & Antiretrovirals*, 04(04), pp.66–74. Available at: <http://www.omicsonline.org/1948-5964/JAA-04-066.digital/JAA-04-066.html> [Accessed March 18, 2014].
- Blanco, J.-L. et al., 2011. HIV-1 integrase inhibitor resistance and its clinical implications. *The Journal of infectious diseases*, 203(9), pp.1204–14. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3069732&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 2, 2014].
- Bonora, S. et al., 2012. Short-term additional enfuvirtide therapy is associated with a greater immunological recovery in HIV very late presenters: a controlled pilot study. *Infection*, 40(1), pp.69–75. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22135137> [Accessed June 7, 2014].
- Van der Borght, K. et al., 2013. Quantitative prediction of integrase inhibitor resistance from genotype through consensus linear regression modeling. *Virology journal*, 10(1), p.8. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3551713&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed May 24, 2014].
- Borst, P. et al., 1999. The multidrug resistance protein family. *Biochimica et biophysica acta*, 1461(2), pp.347–57. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10581366>.
- Borst, P. & Schinkel, A.H., 2013. P-glycoprotein ABCB1: a major player in drug handling by mammals. , 123(10), pp.4131–4133.
- Brandoni, A. & Torres, A.M., 2009. Characterization of the mechanisms involved in the increased renal elimination of bromosulfophthalein during cholestasis: involvement of Oatp1. *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society*, 57(5), pp.449–56. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2675074&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 29, 2014].
- Brinkman, K. et al., 1999. Mitochondrial toxicity induced by nucleoside-analogue reverse-transcriptase inhibitors is a key factor in the pathogenesis of antiretroviral-therapy-related lipodystrophy. *Lancet*, 354(9184), pp.1112–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10509516>.

- Brunton, L.L. et al., 2011. *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics* 12th ed. Lawrence L. Brunton, B. A. Chabner, & B. C. Knollmann, eds., McGraw-Hill.
- Cabrera, S.E. et al., 2009. Influence of the cytochrome P450 2B6 genotype on population pharmacokinetics of efavirenz in human immunodeficiency virus patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(7), pp.2791–8. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2704695&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed May 29, 2014].
- Calcagno, A. et al., 2012. Determinants of darunavir cerebrospinal fluid concentrations: impact of once-daily dosing and pharmacogenetics. *AIDS (London, England)*, 26(12), pp.1529–33. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22555164> [Accessed June 14, 2014].
- Canter, J. a et al., 2008. The mitochondrial pharmacogenomics of haplogroup T: MTND2\*LHON4917G and antiretroviral therapy-associated peripheral neuropathy. *The pharmacogenomics journal*, 8(1), pp.71–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17684475> [Accessed June 22, 2014].
- Cavestro, G.M. et al., 2010. Connections between genetics and clinical data: Role of MCP-1, CFTR, and SPINK-1 in the setting of acute, acute recurrent, and chronic pancreatitis. *The American journal of gastroenterology*, 105(1), pp.199–206. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19844201> [Accessed June 25, 2014].
- Cha, S.H. et al., 2001. Identification and characterization of human organic anion transporter 3 expressing predominantly in the kidney. *Molecular pharmacology*, 59(5), pp.1277–86. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11306713>.
- Chaillou, S. et al., 2002. Intracellular Concentration of Protease Inhibitors in HIV-1-Infected Patients: Correlation with MDR-1 Gene Expression and Low Dose of Ritonavir. , 3(6), pp.493–501.
- Cheng, J. et al., 2009. Rifampicin-Activated Human Pregnane X Receptor and CYP3A4 Induction Enhance Acetaminophen-Induced Toxicity.
- Choo, S.Y., 2007. The HLA System: Genetics, Immunology, Clinical Testing, and Clinical Implications. *Yonsei Medical Journal*, pp.11–23.
- Coelho, A.V.C. et al., 2013. ABCB1 and ABCC1 variants associated with virological failure of first-line protease inhibitors antiretroviral regimens in Northeast Brazil patients. *Journal of clinical pharmacology*, 53(12), pp.1286–93. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23996099> [Accessed June 27, 2014].
- Colebunders, R. et al., 2005. Rolling Out Antiretrovirals in Africa : There Are Still Challenges Ahead. , 41, pp.386–389.
- Cooper, D. a. et al., 2014. Efficacy and safety of maraviroc vs. efavirenz in treatment-naive patients with HIV-1. *Aids*, 28(5), pp.717–725. Available at: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00002030-201403130-00009> [Accessed April 28, 2014].
- Copsel, S. et al., 2011. Multidrug resistance protein 4 (MRP4/ABCC4) regulates cAMP cellular levels and controls human leukemia cell proliferation and differentiation. *The Journal of biological chemistry*, 286(9), pp.6979–88. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3044954&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed May 30, 2014].
- Creus, M.T. et al., 1999. Nevirapina: Revisión de su Farmacocinética e interacciones medicamentosas. , (23), pp.14–23.
- Crowley, E.H. et al., 2014. Targeted knock-in of the polymorphism rs61764370 does not affect KRAS expression but reduces let-7 levels. *Human mutation*, 35(2), pp.208–14. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24282149> [Accessed March 9, 2014].

- Csajka, C. et al., 2003. Population pharmacokinetics and effects of efavirenz in patients with human immunodeficiency virus infection. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 73(1), pp.20–30. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12545140> [Accessed May 27, 2014].
- DeJesus, E. et al., 2004. Abacavir versus zidovudine combined with lamivudine and efavirenz, for the treatment of antiretroviral-naive HIV-infected adults. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 39(7), pp.1038–46. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15472858>.
- Delves, P.J., 2013. Human Leukocyte Antigen (HLA) System. Available at: [http://www.merckmanuals.com/professional/immunology\\_allergic\\_disorders/biology\\_of\\_the\\_immune\\_system/human\\_leukocyte\\_antigen\\_hla\\_system.html](http://www.merckmanuals.com/professional/immunology_allergic_disorders/biology_of_the_immune_system/human_leukocyte_antigen_hla_system.html) [Accessed June 20, 2014].
- Delviks-Frankenberry, K. a et al., 2013. Connection subdomain mutations in HIV-1 subtype-C treatment-experienced patients enhance NRTI and NNRTI drug resistance. *Virology*, 435(2), pp.433–41. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3534945&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed February 27, 2014].
- Derdeyn, C.A. et al., 2001. Sensitivity of Human Immunodeficiency Virus Type 1 to Fusion Inhibitors Targeted to the gp41 First Heptad Repeat Involves Distinct Regions of gp41 and Is Consistently Modulated by gp120 Interactions with the Coreceptor Sensitivity of Human Immunodeficiency. *Journal of virology*, pp.8605–8614.
- Diallo, K., Götte, M. & Wainberg, M.A., 2003. Molecular Impact of the M184V Mutation in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 47(11), pp.3377–3383.
- Dickinson, L. et al., 2014. Population Pharmacokinetic and Pharmacogenetic Analysis of Nevirapine in Hypersensitive and Tolerant HIV-Infected Patients from Malawi. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(2), pp.706–12. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3910846&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed March 1, 2014].
- Dieterich, D.T. et al., 2004. Drug-induced liver injury associated with the use of nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitors. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 38 Suppl 2(Suppl 2), pp.S80–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14986279>.
- DNAbaser, Single nucleotide polymorphism analysis and mutation detection. *DNAbaser website*. Available at: <http://www.dnabaser.com/articles/SNP/SNP-single-nucleotide-polymorphism.html> [Accessed June 7, 2014].
- Dorr, P. et al., 2005. Maraviroc (UK-427,857), a Potent, Orally Bioavailable, and Selective Small-Molecule Inhibitor of Chemokine Receptor CCR5 with Broad-Spectrum Anti-Human Immunodeficiency Virus Type 1 Activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(11), pp.4721–4732.
- Elion, R. et al., 2011. Phase 2 study of cobicistat versus ritonavir each with once-daily atazanavir and fixed-dose emtricitabine/tenofovir df in the initial treatment of HIV infection. *AIDS (London, England)*, 25(15), pp.1881–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21811136> [Accessed February 26, 2014].
- Eron, J.J. et al., 2013. Safety and efficacy of dolutegravir in treatment-experienced subjects with raltegravir-resistant HIV type 1 infection: 24-week results of the VIKING Study. *The Journal of infectious diseases*, 207(5), pp.740–8. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3563307&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed February 11, 2014].
- Eyakem, A.H., 2013. *Pharmacokinetic and Pharmacogenetic aspects of drug- drug interactions between antiretroviral and antituberculosis drugs in Ethiopian patients: Implication for*

- optimization of TB-HIV co-treatment*. Karolinska Institutet, ed., Stockholm, Sweden: Division of Clinical Pharmacology, Department of Laboratory Medicine.
- Fellay, J. et al., 2007. A whole-genome association study of major determinants for host control of HIV-1. *Science (New York, N.Y.)*, 317(5840), pp.944–7. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1991296&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed July 16, 2012].
- Fellay, J. et al., 2002. Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: a pharmacogenetics study. *Lancet*, 359(9300), pp.30–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11809184>.
- Felley, C. et al., 2004. The role of CFTR and SPINK-1 mutations in pancreatic disorders in HIV-positive patients. *Aids*, 18(11), pp.1521–1527. Available at: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00002030-200407230-00006> [Accessed June 25, 2014].
- Feng, L. et al., 2013. The A128T resistance mutation reveals aberrant protein multimerization as the primary mechanism of action of allosteric HIV-1 integrase inhibitors. *The Journal of biological chemistry*, 288(22), pp.15813–20. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23615903> [Accessed May 24, 2014].
- Fletcher, C. V et al., 2000. Zidovudine triphosphate and lamivudine triphosphate concentration-response relationships in HIV-infected persons. *AIDS (London, England)*, 14(14), pp.2137–44. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11061655>.
- Flynn, J.K. et al., 2013. The magnitude of HIV-1 resistance to the CCR5 antagonist maraviroc may impart a differential alteration in HIV-1 tropism for macrophages and T-cell subsets. *Virology*, 442(1), pp.51–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23602007> [Accessed May 18, 2014].
- Fransen, S. et al., 2012. Substitutions at amino acid positions 143, 148, and 155 of HIV-1 integrase define distinct genetic barriers to raltegravir resistance in vivo. *Journal of virology*, 86(13), pp.7249–55. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3416338&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 22, 2014].
- Freed, E.O., 1998. HIV-1 Gag Proteins : Diverse Functions in the Virus Life Cycle (Minireview). , 15.
- Frippiat, F. et al., 2000. Acute pancreatitis associated with severe lactic acidosis in human immunodeficiency virus-infected patients receiving triple therapy. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 45(3), pp.411–2. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10702573>.
- Fry, J., 2006. FDA / FCHR Collaborative Public Meeting on Long-term Safety Concerns Associated with CCR5 Antagonist Development. *FDA Draft Report*. Available at: <http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/07/briefing/2007-4283b1-02-03-FDA-draftreport.pdf>.
- Furuya, T.K. et al., 2013. Association of APOA1 and APOA5 polymorphisms and haplotypes with lipid parameters in a Brazilian elderly cohort. , 12(3), pp.3495–3499.
- Galante, E. et al., 2014. Development of purine-derived 18F-labeled pro-drug tracers for imaging of MRP1 activity with PET. *Journal of medicinal chemistry*, 57(3), pp.1023–32. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3963453&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Gatanaga, H., Yazaki, H., et al., 2007. HLA-Cw8 primarily associated with hypersensitivity to nevirapine. *Correspondence*, pp.257–269.
- Gatanaga, H., Hayashida, T., et al., 2007. Successful efavirenz dose reduction in HIV type 1-infected individuals with cytochrome P450 2B6 \*6 and \*26. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 45(9), pp.1230–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17918089> [Accessed May 23, 2014].

- Genetics Home Reference, 2009. HLA. Available at: <http://ghr.nlm.nih.gov/geneFamily/hla> [Accessed June 19, 2014].
- Genetics Home Reference, HLA-B. Available at: <http://ghr.nlm.nih.gov/gene/HLA-B> [Accessed June 19, 2014].
- Georgiadou, D. et al., 2014. Allele-dependent thermodynamic and structural perturbations in ApoE variants associated with the correction of dyslipidemia and formation of spherical ApoE-containing HDL particles. *NIH Public Access*, 226(2), pp.385–391.
- Ghodke, Y. et al., Zidovudine Pathway, Pharmacokinetics/Pharmacodynamics. *PharmGkb*. Available at: <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA165859361> [Accessed June 24, 2014].
- Gorny, M. et al., 2010. Pharmacogenomic adaptation of antiretroviral therapy: overcoming the failure of lopinavir in an African infant with CYP2D6 ultrarapid metabolism. *European journal of clinical pharmacology*, 66(1), pp.107–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19936726> [Accessed August 3, 2012].
- Gulick, R.M. et al., 2014. Five-Year Safety Evaluation of Maraviroc in HIV-1-Infected Treatment-Experienced Patients. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*, 65(1), pp.78–81. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24419064>.
- Gulick, R.M. et al., 2007. Phase 2 study of the safety and efficacy of vicriviroc, a CCR5 inhibitor, in HIV-1-Infected, treatment-experienced patients: AIDS clinical trials group 5211. *The Journal of infectious diseases*, 196(2), pp.304–12. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17570119> [Accessed May 18, 2014].
- Gumperz, J.E. et al., 1995. The Bw4 public epitope of HLA-B molecules confers reactivity with natural killer cell clones that express NKB1, a putative HLA receptor. *The Journal of experimental medicine*, 181(3), pp.1133–44. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2191933&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Haas, D.W. et al., 2003. MDR1 Gene Polymorphisms and Phase 1 Viral Decay During HIV-1 Infection: An Adult AIDS Clinical Trials Group Study. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*, 34(3), pp.295–298.
- Haas, D.W. et al., 2011. of Long-Term Responses Pharmacogenetics Antiretroviral Regimens Containing Efavirenz and / or Nelfinavir : Trials Group Study.
- Haas, D.W. et al., 2004. Pharmacogenetics of efavirenz and central nervous system side effects: an Adult AIDS Clinical Trials Group study. *AIDS (London, England)*, 18(18), pp.2391–400. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15622315>.
- Haas, D.W. et al., 2005. Pharmacogenetics of long-term responses to antiretroviral regimens containing Efavirenz and/or Nelfinavir: an Adult Aids Clinical Trials Group Study. *The Journal of infectious diseases*, 192(11), pp.1931–42. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16267764>.
- Haas, D.W. et al., 2006. Pharmacogenetics of nevirapine-associated hepatotoxicity: an Adult AIDS Clinical Trials Group collaboration. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 43(6), pp.783–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16912957>.
- Hamon, S.C. et al., 2006. Evidence for Consistent Intragenic and Intergenic Interactions between SNP Effects in the APOA1/C3/A4/A5 Gene Cluster. *NIH Public Access*, 61(2), pp.87–96.
- Hardy, W.D. et al., 2010. Two-Year Safety and Virologic Efficacy of Maraviroc in Treatment-Experienced Patients With CCR5-Tropic HIV-1 Infection: 96-Week Combined Analysis of MOTIVATE 1 and 2. *NIH Public Access*, 55(5), pp.558–564.

- Herlitz, L.C. et al., 2010. Tenofovir nephrotoxicity: acute tubular necrosis with distinctive clinical, pathological, and mitochondrial abnormalities. *Kidney international*, 78(11), pp.1171–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20811330> [Accessed June 24, 2014].
- Hewitt, R.G., 2002. Abacavir hypersensitivity reaction. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 34(8), pp.1137–42. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11915004>.
- Howard Hughes Medical Institute, 2007. HIV Life Cycle. Available at: <http://www.hhmi.org/>.
- Hughes, D.A. et al., 2004. Cost-effectiveness analysis of HLA B \* 5701 genotyping in preventing abacavir hypersensitivity. , pp.335–342.
- Hughes, S. et al., 2008. PREDICT-1 ( CNA106030 ): the first powered , prospective trial of pharmacogenetic screening to reduce drug adverse events. , 1(May 2007), pp.121–129.
- Hulgan, T. et al., 2005. Mitochondrial haplogroups and peripheral neuropathy during antiretroviral therapy: an adult AIDS clinical trials group study. *AIDS (London, England)*, 19(13), pp.1341–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16103764>.
- Indolfi, G. et al., 2014. Comparative analysis of rs12979860 SNP of the IFNL3 gene in children with hepatitis C and ethnic matched controls using 1000 Genomes Project data. *PLoS one*, 9(1), p.e85899. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3895017&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed March 9, 2014].
- Ingelman-Sundberg, M. et al., 2007. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoeconomic and clinical aspects. *Pharmacology & therapeutics*, 116(3), pp.496–526. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18001838> [Accessed July 24, 2012].
- Izzedine, H. et al., 2006. Association between ABCC2 gene haplotypes and tenofovir-induced proximal tubulopathy. *The Journal of infectious diseases*, 194(11), pp.1481–91. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17083032>.
- Jamshidi, Y. et al., 2010. Tribal ethnicity and CYP2B6 genetics in Ugandan and Zimbabwean populations in the UK: implications for efavirenz dosing in HIV infection. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 65(12), pp.2614–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20952418> [Accessed June 27, 2014].
- Jancova, P., Anzenbacher, P. & Anzenbacherova, E., 2010. Phase II drug metabolizing enzymes. *Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacký, Olomouc, Czechoslovakia*, 154(2), pp.103–16. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20668491>.
- Jang, D.-H. et al., 2014. Characterization of Gp41 polymorphisms in the fusion peptide domain and T-20 (Enfuvirtide) resistance-associated regions in Korean HIV-1 isolates. *Journal of Korean medical science*, 29(3), pp.456–9. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3945146&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Jiménez-Nácher, I. et al., 2008. Trends in the prescription of antiretroviral drugs and impact on plasma HIV-RNA measurements. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 62(4), pp.816–22. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18567912> [Accessed August 3, 2012].
- Jochmans, D. et al., 2006. Indolopyridones inhibit human immunodeficiency virus reverse transcriptase with a novel mechanism of action. *Journal of virology*, 80(24), pp.12283–92. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1676280&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 24, 2014].

- John, M. et al., 2005. Interactive selective pressures of HLA-restricted immune responses and antiretroviral drugs on HIV-1. *Antiviral therapy*, 10(4), pp.551–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16038481>.
- Johnson, V. a et al., 2007. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: 2007. *Topics in HIV medicine : a publication of the International AIDS Society, USA*, 15(4), pp.119–25. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17720996>.
- Johnson, V. a et al., 2008. Update of the drug resistance mutations in HIV-1: Spring 2008. *Topics in HIV medicine : a publication of the International AIDS Society, USA*, 16(1), pp.62–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18441382>.
- Joly, V. et al., 2013. Intensification of antiretroviral therapy through addition of enfuvirtide in naive HIV-1-infected patients with severe immunosuppression does not improve immunological response: results of a randomized multicenter trial (ANRS 130 Apollo). *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(2), pp.758–65. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3553717&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed May 18, 2014].
- Kalyesubula, R. & Perazella, M. a, 2011. Nephrotoxicity of HAART. *AIDS research and treatment*, 2011, p.562790. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3157198&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 10, 2014].
- Kamara, D. et al., 2012. Poster Abstract Impact of antiretroviral therapy ( ART ), immunosuppression and viraemia on lipid levels : the D : A : D study. , 15(November), pp.9–10.
- Kappelhoff, B.S. et al., 2005. Are adverse events of nevirapine and efavirenz related to plasma concentrations? *Antiviral therapy*, 10(4), pp.489–98. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16038474>.
- Keswani, S.C. et al., 2002. HIV-associated sensory neuropathies. *AIDS (London, England)*, 16(16), pp.2105–17. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12409731>.
- Khabour, O.F. et al., 2013. Frequency of MDR1 single nucleotide polymorphisms in a Jordanian population, including a novel variant. *Genetics and molecular research : GMR*, 12(1), pp.801–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23546964>.
- Knight, J.C., 2009. Genetics and the general physician: insights, applications and future challenges. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians*, 102(11), pp.757–72. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2766102&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed August 3, 2012].
- Koeleman, B.P.C. et al., 2013. A concise history of genome-wide association studies. *Saudi Journal of Medicine and Medical Sciences*, 1(1), p.4. Available at: <http://www.sjmms.net/text.asp?2013/1/1/4/112902> [Accessed March 9, 2014].
- Kondru, R. et al., 2008. Molecular Interactions of CCR5 with Major Classes of Small-Molecule Anti-HIV CCR5 Antagonists. *Molecular pharmacology*, 73(3), pp.789–800.
- Kreutz, R.P. et al., 2013. Cytochrome P450 3A4\*22, PPAR- $\alpha$ , and ARNT polymorphisms and clopidogrel response. , pp.185–192.
- Kullak-Ublick, G. a. et al., 2001. Organic anion-transporting polypeptide B (OATP-B) and its functional comparison with three other OATPs of human liver. *Gastroenterology*, 120(2), pp.525–533. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016508501209706> [Accessed May 28, 2014].
- Kuritzkes, D.R., 2009a. HIV-1 Entry Inhibitors: An Overview. *NIH Public Access*, 4(2), pp.82–87.
- Kuritzkes, D.R. et al., 2008. Preexisting resistance to nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitors predicts virologic failure of an efavirenz-based regimen in treatment-naive HIV-1-infected

- subjects. *The Journal of infectious diseases*, 197(6), pp.867–70. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18269317> [Accessed May 26, 2014].
- Kuritzkes, D.R., 2009b. Resistance to New Drugs: CCR5 antagonists and Integrase Inhibitors.
- Kwara, A., Ramachandran, G. & Swaminathan, S., 2010. Dose adjustment of the non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors during concurrent rifampicin-containing tuberculosis therapy: one size does not fit all. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 6(1), pp.55–68. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2939445&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Kwong, P.D. et al., 1998. Structure of an HIV gp120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody. *Nature*, 393(6686), pp.648–59. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9641677>.
- Lai-Goldman, M. & Faruki, H., 2008. Abacavir hypersensitivity: a model system for pharmacogenetic test adoption. *Genetics in medicine: official journal of the American College of Medical Genetics*, 10(12), pp.874–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19092439> [Accessed July 13, 2012].
- Lce, M. et al., 2011. Efavirenz or nevirapine in three-drug combination therapy with two nucleoside-reverse transcriptase inhibitors for initial treatment of HIV infection in antiretroviral-naïve individuals ( Review ). *The Cochrane Library*, (2).
- Lévesque, E. et al., 2007. Regulation of the UGT1A1 bilirubin-conjugating pathway: role of a new splicing event at the UGT1A locus. *Hepatology (Baltimore, Md.)*, 45(1), pp.128–38. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17187418> [Accessed June 17, 2014].
- Li, L. et al., 2011. Monoclonal CCR5 antibody for treatment of people with HIV infection ( Review ). *The Cochrane Library*, (2).
- Li, X.-Z. & Nikaido, H., 2010. *Efflux-Mediated Drug Resistance in Bacteria: an Update*,
- Li, Z. et al., 2013. In vitro cross-resistance profile of nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI) BMS-986001 against known NRTI resistance mutations. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(11), pp.5500–8. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3811251&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed February 27, 2014].
- Lin, G. et al., 2001. CD4-Independent Use of Rhesus CCR5 by Human Immunodeficiency Virus Type 2 Implicates an Electrostatic Interaction between the CCR5 N Terminus and the gp120 C4 Domain CD4-Independent Use of Rhesus CCR5 by Human Immunodeficiency Virus Type 2 Implicates an E.
- Lin, J.H. et al., 2000. Route-Dependent Nonlinear Pharmacokinetics of a Novel HIV Protease Inhibitor: Involvement of Enzyme Inactivation. *Drug Metabolism and Disposition*, 28(4), pp.460–466.
- Littera, R. et al., 2006. HLA-dependent hypersensitivity to nevirapine in Sardinian HIV patients. *AIDS (London, England)*, 20(12), pp.1621–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16868443>.
- Loo, T.W. & Clarke, D.M., 2014. Identification of the Distance Between P-glycoprotein's Homologous Halves that Triggers the High/Low ATPase Activity Switch. *The Journal of biological chemistry*. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24523403> [Accessed February 14, 2014].
- Lubomirov, R. et al., 2011. Association of pharmacogenetic markers with premature discontinuation of first-line anti-HIV therapy: an observational cohort study. *The Journal of infectious diseases*, 203(2), pp.246–57. Available at:

- <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3071070&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed July 13, 2012].
- Lubomirov, R. et al., 2013. Pharmacogenetics-based population pharmacokinetic analysis of etravirine in HIV-1 infected individuals. *Pharmacogenetics and genomics*, 23(1), pp.9–18. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23111422> [Accessed February 28, 2014].
- Luetkemeyer, A., 2013. Tuberculosis and HIV. Available at: <http://hivinsite.ucsf.edu/InSite?page=kb-05-01-06#S1X>.
- MacArthur, R.D. & Novak, R.M., 2008. Reviews of anti-infective agents: maraviroc: the first of a new class of antiretroviral agents. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 47(2), pp.236–41. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18532888> [Accessed June 11, 2014].
- Maeda, Y. et al., 2011. AIDS & Clinical In vitro and In vivo Resistance to Human Immunodeficiency Virus Type 1 Entry Inhibitors. *AIDS and Clinical Research*, pp.1–12.
- Mahungu, T.W. et al., 2009. The impact of pharmacogenetics on HIV therapy. *International Journal of STD & AIDS*, 20, pp.145–151.
- Mallon, P.W.G., 2006. Antiretroviral therapy and dyslipidaemia: unlocking the code. *PLoS medicine*, 3(3), p.e85. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1351918&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed August 3, 2012].
- Mancinelli, L., Cronin, M. & Sadée, W., 2000. Pharmacogenomics: the promise of personalized medicine. *AAPS pharmSci*, 2(1), p.E4. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2750999&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Mandal, B.A., 2012. What are Cytokines? , p.1. Available at: <http://www.news-medical.net/health/What-are-Cytokines.aspx>.
- Manosuthi, W. et al., 2013. Impact of pharmacogenetic markers of CYP2B6, clinical factors, and drug-drug interaction on efavirenz concentrations in HIV/tuberculosis-coinfected patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(2), pp.1019–24. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3553682&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed February 28, 2014].
- Marcoux, J. et al., 2013. Mass spectrometry reveals synergistic effects of nucleotides, lipids, and drugs binding to a multidrug resistance efflux pump. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(24), pp.9704–9. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3683783&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed May 30, 2014].
- Marinello, J. et al., 2008. Comparison of Raltegravir and Elvitegravir on HIV-1 Integrase Catalytic Reactions and on a Series of Drug-Resistant Integrase Mutants. *NIH Public Access*, 47(October 2007), pp.9345–9354.
- Martin, A.M. et al., 2004. Predisposition to abacavir hypersensitivity conferred by HLA-B\*5701 and a haplotypic Hsp70-Hom variant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(12), pp.4180–5. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=384715&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Martin, A.M. et al., 2005. Predisposition to nevirapine hypersensitivity associated with HLA-DRB1m 0101 and abrogated by low CD4 T-cell counts. *Research Letters*, pp.97–99.
- Marzolini, C. et al., 2001. Efavirenz plasma levels can predict treatment failure and central nervous system side effects in HIV-1-infected patients. *AIDS (London, England)*, 15(1), pp.71–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11192870>.

- McColl, D.J. et al., 2007. Resistance and Cross-Resistance to First Generation Integrase Inhibitors : Insights from a Phase 2 Study of Elvitegravir (GS-9137). *XVI International Drug Resistance Workshop*.
- Mehlotra, R.K., Bockarie, M.J. & Zimmerman, P. a, 2007. CYP2B6 983T>C polymorphism is prevalent in West Africa but absent in Papua New Guinea: implications for HIV/AIDS treatment. *British journal of clinical pharmacology*, 64(3), pp.391–5. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2000644&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 27, 2014].
- Menéndez-Arias, L., 2013. Molecular basis of human immunodeficiency virus type 1 drug resistance: overview and recent developments. *Antiviral research*, 98(1), pp.93–120. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23403210> [Accessed January 27, 2014].
- Mishra, T. & Shrivastav, P.S., 2014. Validation of Simultaneous Quantitative Method of HIV Protease Inhibitors Atazanavir, Darunavir and Ritonavir in Human Plasma by UPLC-MS/MS. *The Scientific World Journal*, 2014, pp.1–12. Available at: <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2014/482693/>.
- Mmeko, E. et al., 2013. Single nucleotide polymorphism ( SNP ) markers discovery within Musa spp ( plantain landraces , AAB genome ) for use in beta carotene ( Provitamin A ) trait mapping. *American Journal of Biology and Life Sciences*, 1(1), pp.11–19.
- Montaner, J.S.G. et al., 2014. Expansion of HAART Coverage Is Associated with Sustained Decreases in HIV/AIDS Morbidity, Mortality and HIV Transmission: The “HIV Treatment as Prevention” Experience in a Canadian Setting N. Sluis-Cremer, ed. *PLoS ONE*, 9(2), p.e87872. Available at: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0087872> [Accessed February 13, 2014].
- Montessori, V. et al., 2004. Adverse effects of antiretroviral therapy for HIV infection. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*, 170(2), pp.229–38. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=315530&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Mukonzo, J.K. et al., 2009. A novel polymorphism in ABCB1 gene, CYP2B6\*6 and sex predict single-dose efavirenz population pharmacokinetics in Ugandans. *British journal of clinical pharmacology*, 68(5), pp.690–9. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2791975&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 7, 2014].
- Mukonzo, J.K. et al., 2013a. Influence of efavirenz pharmacokinetics and pharmacogenetics on neuropsychological disorders in Ugandan HIV-positive patients with or without tuberculosis: a prospective cohort study. *BMC infectious diseases*, 13(1), p.261. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3680019&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed September 29, 2013].
- Mukonzo, J.K. et al., 2013b. Influence of efavirenz pharmacokinetics and pharmacogenetics on neuropsychological disorders in Ugandan HIV-positive patients with or without tuberculosis: a prospective cohort study. *BMC infectious diseases*, 13(1), p.261. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3680019&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed February 27, 2014].
- Murga, J.D. et al., 2006. Potent antiviral synergy between monoclonal antibody and small-molecule CCR5 inhibitors of human immunodeficiency virus type 1. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 50(10), pp.3289–96. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1610098&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed November 3, 2012].
- Murray, J.M., Kelleher, A.D. & Cooper, D. a, 2011. Timing of the components of the HIV life cycle in productively infected CD4+ T cells in a population of HIV-infected individuals. *Journal of*

- virology*, 85(20), pp.10798–805. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3187481&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed February 16, 2014].
- Nasi, M. et al., 2003. MDR1 C3435T genetic polymorphism does not influence the response to antiretroviral therapy in drug-naïve HIV-positive patients. *AIDS (London, England)*, 17(11), pp.1696–1698. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12853753> [Accessed June 18, 2014].
- National Library of Medicine, MDR proteins and P-gp definition. Available at: [http://www.nlm.nih.gov/cgi/mesh/2011/MB\\_cgi?mode=&term=Drug+Resistance,+Multiple](http://www.nlm.nih.gov/cgi/mesh/2011/MB_cgi?mode=&term=Drug+Resistance,+Multiple) [Accessed June 15, 2014].
- Nelson, D., 2009. Molecular Basis of Disease Cytochrome P450s in humans Molecular Basis of Disease Cytochrome P450s in humans. , (1999), pp.0–11.
- Ngaimisi, E. et al., 2013. Importance of ethnicity, CYP2B6 and ABCB1 genotype for efavirenz pharmacokinetics and treatment outcomes: a parallel-group prospective cohort study in two sub-Saharan Africa populations. *PloS one*, 8(7), p.e67946. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3702506&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 7, 2014].
- Noack, A. et al., 2014. Drug-induced trafficking of p-glycoprotein in human brain capillary endothelial cells as demonstrated by exposure to mitomycin C. *PloS one*, 9(2), p.e88154. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3913777&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed May 26, 2014].
- Nogueira, B.F., Almeida, C.R. de & Ojopi, E.P.B., 2006. Farmacogenética de doenças neurológicas. *Medicina, Ribeirão Preto*, 39(4), pp.562–9.
- North, T.W. et al., 2010. Viral sanctuaries during highly active antiretroviral therapy in a nonhuman primate model for AIDS. *Journal of virology*, 84(6), pp.2913–22. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2826073&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed May 28, 2014].
- Núñez, M. et al., 2001. Higher Efavirenz Plasma Levels Correlate With Development of Insomnia. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, (28), pp.399–404.
- Okulicz, J.F. et al., 2011. Virologic outcomes of HAART with concurrent use of cytochrome P450 enzyme-inducing antiepileptics: a retrospective case control study. *AIDS research and therapy*, 8(1), p.18. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3119192&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed May 31, 2014].
- Ong, L.Y. et al., 2014. Molecular Diversity of HIV-1 and Surveillance of Transmitted Drug Resistance Variants Among Treatment Naïve Patients , 5 Years After Active Introduction of HAART in Kuala Lumpur , Malaysia. , 44(August 2013), pp.38–44.
- Owen, A., 2006. The impact of host pharmacogenetics on antiretroviral drug disposition. *Current infectious disease reports*, 8(5), pp.401–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16934200>.
- Owen, A. & Khoo, S.H., 2008. Pharmacogenetics of antiretroviral agents. *Current opinion in HIV and AIDS*, 3(3), pp.288–95. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19372981>.
- Parathyras, J. et al., 2009. A pharmacogenetic study of CD4 recovery in response to HIV antiretroviral therapy in two South African population groups. *Journal of human genetics*, 54(5), pp.261–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19282874> [Accessed August 3, 2012].

- Parham, P. et al., 1988. Nature of polymorphism in HLA-A, -B, and -C molecules. , 85(June), pp.4005–4009.
- Park, J. et al., 2007. SNP@Ethnos: a database of ethnically variant single-nucleotide polymorphisms. *Nucleic acids research*, 35(Database issue), pp.D711–5. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1747186&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 7, 2014].
- Paulus, C., 1999. Competitive Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type-1 Protease by the Gag-Pol Transframe Protein. *Journal of Biological Chemistry*, 274(31), pp.21539–21543. Available at: <http://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc.274.31.21539> [Accessed February 15, 2014].
- Pedersen, O.S. & Pedersen, E.B., 1999. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors: the NNRTI boom. *Antiviral chemistry & chemotherapy*, 10(6), pp.285–314. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10628805>.
- Pepper, M., 2005. Pharmacogenetics offers Hope. , 95(1), pp.19–20.
- Pessoa, L.S. et al., 2011. Genotypic analysis of the gp41 HR1 region from HIV-1 isolates from enfuvirtide-treated and untreated patients. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*, 57 Suppl 3, pp.S197–201. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21857318>.
- Phalora, P. et al., 2013. Post-transcriptional control of HIV-1 Gag expression. *Retrovirology*, 10(Suppl 1), p.P87. Available at: <http://www.retrovirology.com/content/10/S1/P87>.
- PHG Foundation, PHG Foundation. Available at: <http://www.phgfoundation.org/tutorials/pharmacogenomics/index.html>.
- Phillips, E.J., 2006. The pharmacogenetics of antiretroviral therapy. *Current opinion in HIV and AIDS*, 1(3), pp.249–56. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19372817>.
- Phillips, E.J. & Mallal, S. a, 2008. Pharmacogenetics and the potential for the individualization of antiretroviral therapy. *Current opinion in infectious diseases*, 21(1), pp.16–24. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18192781>.
- Prugnotte, F. et al., 2005. Pathogen-driven selection and worldwide HLA class I diversity. *Current biology: CB*, 15(11), pp.1022–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15936272> [Accessed May 27, 2014].
- Puthanakit, T. et al., 2009. Original article Plasma efavirenz concentrations and the association with CYP2B6 -516G > T polymorphism in HIV-infected Thai children. *Antiviral Therapy*, (14), pp.315–320.
- Rakhmanina, N.Y. & van den Anker, J.N., 2010. Efavirenz in the therapy of HIV infection. *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, 6(1), pp.95–103. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2810555&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Reis, G. & Alca, K.C. De, 2014. Polymorphisms in the HIV-1 gp41 env Gene , Natural Resistance to Enfuvirtide ( T-20 ) and pol Resistance Among Pregnant Brazilian Women. , 17(July 2013), pp.8–17.
- Reyskens, K.M.S.E. et al., 2013. Cardio-metabolic effects of HIV protease inhibitors (lopinavir/ritonavir). *PloS one*, 8(9), p.e73347. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3787040&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed February 23, 2014].
- Ribaudo, H.J. et al., 2010. Effect of CYP2B6, ABCB1, and CYP3A5 polymorphisms on efavirenz pharmacokinetics and treatment response: an AIDS Clinical Trials Group study. *The Journal of infectious diseases*, 202(5), pp.717–22. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2919241&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed July 13, 2012].

- Ribaudo, H.J. et al., 2013. Impact of UGT1A1 Gilbert variant on discontinuation of ritonavir-boosted atazanavir in AIDS Clinical Trials Group Study A5202. *The Journal of infectious diseases*, 207(3), pp.420–5. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3537445&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed February 23, 2014].
- Ritchie, M.D. et al., 2006. Drug transporter and metabolizing enzyme gene variants and nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitor hepatotoxicity. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 43(6), pp.779–82. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16912956>.
- Robbins, B.L. et al., 1998. Anti-Human Immunodeficiency Virus Activity and Cellular Metabolism of a Potential Prodrug of the Acyclic Nucleoside Phosphonate 9-R -(2-Phosphonomethoxypropyl)adenine (PMPA), Bis(isopropylloxymethylcarbonyl)PMPA. *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY*, 42(3), pp.612–617.
- Rocco, C. a et al., 2012. Hypercholesterolemia is associated with the apolipoprotein C-III (APOC3) genotype in children receiving HAART: an eight-year retrospective study. *PloS one*, 7(7), p.e39678. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3405089&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed March 13, 2014].
- Roche, M. et al., 2013. A common mechanism of clinical HIV-1 resistance to the CCR5 antagonist maraviroc despite divergent resistance levels and lack of common gp120 resistance mutations. *Retrovirology*, 10, p.43. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3648390&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Rodriguez-Novoa, S. et al., 2005. Influence of 516G>T polymorphisms at the gene encoding the CYP450-2B6 isoenzyme on efavirenz plasma concentrations in HIV-infected subjects. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 40(9), pp.1358–61. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15825040>.
- Rodríguez-Nóvoa, S. et al., 2006. Overview of the pharmacogenetics of HIV therapy. *The pharmacogenomics journal*, 6(4), pp.234–45. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16462814> [Accessed August 3, 2012].
- Romero, A. et al., 2013. Relationship between obesity and biochemical markers in Brazilian adolescents. *Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano*, (June), pp.268–276.
- Rosen-Zvi, M. et al., 2008. Selecting anti-HIV therapies based on a variety of genomic and clinical factors. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 24(13), pp.i399–406. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2718619&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed August 3, 2012].
- Rotger, M. et al., 2005. Influence of CYP2B6 polymorphism on plasma and intracellular concentrations and toxicity of efavirenz and nevirapine in HIV-infected patients. *Pharmacogenetics and genomics*, 15(1), pp.1–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15864119>.
- Saitoh, A. et al., 2005. An MDR1-3435 variant is associated with higher plasma nelfinavir levels and more rapid virologic response in HIV-1 infected children. *AIDS (London, England)*, 19(4), pp.371–80. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15750390>.
- Saitoh, A. et al., 2007. CYP2B6 genetic variants are associated with nevirapine pharmacokinetics and clinical response in HIV-1-infected children. *AIDS (London, England)*, 21(16), pp.2191–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18090046>.
- Sato, A. et al., 2009. S/GSK1349572 is a Potent Next Generation HIV Integrase Inhibitor. , (July), p.1.

- Schackman, B.R. et al., 2014. Cost-effectiveness Analysis of UGT1A1 Genetic Testing to Inform Antiretroviral Prescribing in HIV Disease. *NIH Public Access*, 18(3), pp.399–408.
- Schackman, B.R. et al., 2008. The cost-effectiveness of HLA-B\*5701 genetic screening to guide initial antiretroviral therapy for HIV. *AIDS (London, England)*, 22(15), pp.2025–33. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2648845&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed August 3, 2012].
- Schwartz, D.H. & Iyengar, S., 2005. Toward genetic rationalization of antiretroviral therapy for HIV. *AIDS (London, England)*, 19(9), pp.975–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15905680>.
- Setzer, B. et al., 2005. Mitochondrial toxicity of nucleoside analogues in primary human lymphocytes. *Antiviral therapy*, 10(2), pp.327–34. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15865227>.
- Shiau, S. et al., 2014. Sex differences in responses to antiretroviral treatment in South African HIV-infected children on ritonavir-boosted lopinavir- and nevirapine-based treatment. *BMC pediatrics*, 14, p.39. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3927631&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Shiina, T. et al., 2009. The HLA genomic loci map: expression, interaction, diversity and disease. *Journal of human genetics*, 54(1), pp.15–39. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19158813> [Accessed May 27, 2014].
- Shimura, K. et al., 2010. Resistance profiles of novel electrostatically constrained HIV-1 fusion inhibitors. *The Journal of biological chemistry*, 285(50), pp.39471–80. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2998136&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 28, 2014].
- Da Silva, G.B.R.F. et al., 2013. Expression of the Classical and Nonclassical HLA Molecules in Breast Cancer. *International journal of breast cancer*, 2013, p.250435. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3864140&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Skafidas, E. et al., 2012. Predicting the diagnosis of autism spectrum disorder using gene pathway analysis. *Molecular psychiatry*, (July), pp.1–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22965006> [Accessed February 20, 2014].
- Sluis-Cremera, N. & Tachedjian, G., 2008. Mechanisms of inhibition of HIV replication by nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors. , 134, pp.147–156.
- Souza, S.J. et al., 2013. Lipid profile of HIV-infected patients in relation to antiretroviral therapy: a review. *Revista da Associação Médica Brasileira (1992)*, 59(2), pp.186–98. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23582562> [Accessed February 22, 2014].
- Spaulding, A., Gw, R. & Siegfried, N., 2011. Tenofovir or zidovudine in three-drug combination therapy with one nucleoside reverse transcriptase inhibitor and one non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor for initial treatment of HIV infection in antiretroviral-naïve individuals (Review ). *The Cochrane Library*, (2).
- Strassburg, C.P. et al., 1999. Regulation and function of family 1 and family 2 UDP-glucuronosyltransferase genes (UGT1A, UGT2B) in human oesophagus. *Biochemical Journal - Biochemical Society*, 498, pp.489–498.
- Sukasem, C. et al., 2013. High plasma efavirenz concentration and CYP2B6 polymorphisms in Thai HIV-1 infections. *Drug metabolism and pharmacokinetics*, 28(5), pp.391–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23399569>.

- Svärd, J. et al., 2010. Nuclear receptor-mediated induction of CYP450 by antiretrovirals: functional consequences of NR1I2 (PXR) polymorphisms and differential prevalence in whites and sub-Saharan Africans. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*, 55(5), pp.536–49. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20861742>.
- Swart, M. et al., 2012. ABCB1 4036A>G and 1236C>T Polymorphisms Affect Plasma Efavirenz Levels in South African HIV/AIDS Patients. *Frontiers in genetics*, 3(November), p.236. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3488761&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 7, 2014].
- Tarr, P.E. et al., 2005. Modeling the Influence of APOC3, APOE, and TNF Polymorphisms on the Risk of Antiretroviral Therapy–Associated Lipid Disorders. *Journal of Infectious Diseases*, (191), pp.1419–1426.
- Telenti, a & Zanger, U.M., 2008. Pharmacogenetics of anti-HIV drugs. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 48, pp.227–56. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17883329> [Accessed August 3, 2012].
- Ternopil State Medical University, Retroviruses. HIV. Laboratory diagnosis of HIV infection. *Ternopil State Medical University webpage*. Available at: [http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/micbio/classes\\_stud/en/nurse/Bacchalour of Sciences in Nurses/ptn/Microbiology/2/29 Retroviruses. HIV. .htm](http://intranet.tdmu.edu.ua/data/kafedra/internal/micbio/classes_stud/en/nurse/Bacchalour%20of%20Sciences%20in%20Nurses/ptn/Microbiology/2/29%20Retroviruses.%20HIV.%20.htm) [Accessed June 24, 2014].
- The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Committee, The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database. Available at: <http://www.cypalleles.ki.se/> [Accessed August 10, 2014].
- TheBody.com, C.H.R.-, Complete HIV/AIDS Resource. Available at: <http://www.thebody.com>.
- Thomas B. Shea et al., 2002. Apolipoproteins E Deficiency promotes increased Oxidative Stress and compensatory increases in Antioxidants in Brain Tissue. *Free Radical Biology & Medicine*, 33, pp.0000–0000.
- Thomas, M.J., Bhat, S. & Sorci-Thomas, M.G., 2008. Three-dimensional models of HDL apoA-I: implications for its assembly and function. *Journal of lipid research*, 49(9), pp.1875–83. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2515525&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 12, 2014].
- Tirona, R.G. et al., 2001. Polymorphisms in OATP-C: identification of multiple allelic variants associated with altered transport activity among European- and African-Americans. *The Journal of biological chemistry*, 276(38), pp.35669–75. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11477075> [Accessed June 14, 2014].
- Torrecilla, E., Llácer Delicado, T. & Holguín, A., 2014. New Findings in Cleavage Sites Variability across Groups, Subtypes and Recombinants of Human Immunodeficiency Virus Type 1. *PloS one*, 9(2), p.e88099. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24516589> [Accessed February 12, 2014].
- Tovar-y-Romo, L.B. et al., 2012. Dendritic spine injury induced by the 8-hydroxy metabolite of efavirenz. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 343(3), pp.696–703. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3500535&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Tozzi, V., 2010. Pharmacogenetics of antiretrovirals. *Antiviral research*, 85(1), pp.190–200. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19744523> [Accessed July 13, 2012].
- Tran, E.E.H. et al., 2012. Structural Mechanism of Trimeric HIV-1 Envelope Glycoprotein Activation. *This is an open-access article, free of all copyright, and may be freely reproduced, distributed, transmitted, modified, built upon, or otherwise used by anyone for any lawful*

- purpose. The work is made available under the Creative Commons CC0 public domain. Available at: <http://www.plospathogens.org/article/info%3Adoi%2F> [Accessed October 28, 2013].*
- Turnquist, H.R. et al., 2000. HLA-B polymorphism affects interactions with multiple endoplasmic reticulum proteins. *European journal of immunology*, 30(10), pp.3021–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11069086>.
- Varatharajan, L. & Thomas, S.A., 2009. The Transport of Anti-HIV Drugs across the Blood-CNS Interfaces : *Europe PMC Funders Group*, 82(2), pp.1–25.
- Veldkamp, a I. et al., 2001. High exposure to nevirapine in plasma is associated with an improved virological response in HIV-1-infected individuals. *AIDS (London, England)*, 15(9), pp.1089–95. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11416710>.
- Vella, S. et al., 2012. The history of antiretroviral therapy and of its implementation in resource-limited areas of the world. *AIDS (London, England)*, 26(10), pp.1231–41. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22706009> [Accessed June 17, 2014].
- Verstuyft, C. et al., 2005. Absence of association between MDR1 genetic polymorphisms, indinavir pharmacokinetics and response to highly active antiretroviral therapy. *AIDS (London, England)*, 19(18), pp.2127–31. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16284462>.
- Vitezica, Z.G. et al., 2008. HLA-DRB1M01 associated with cutaneous hypersensitivity induced by nevirapine and efavirenz. *Research Letters*, pp.539–544.
- Votteler, J., 2009. Characterization of Virus-Host Interactions that regulate HIV-1 replication.
- Van der Walt, J.M. et al., 2003. Mitochondrial polymorphisms significantly reduce the risk of Parkinson disease. *American journal of human genetics*, 72(4), pp.804–11. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1180345&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Wang, D. et al., 2005. Multidrug resistance polypeptide 1 (MDR1, ABCB1) variant 3435C>T affects mRNA stability. *Pharmacogenetics and genomics*, 15(10), pp.693–704. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16141795>.
- Wang, L. et al., 2009. A Bioinformatics Approach for the Phenotype Prediction of Nonsynonymous Single Nucleotide Polymorphisms in Human Cytochromes P450. *The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 37(5), pp.977–991.
- Wang, X. et al., 2003. Breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) induces cellular resistance to HIV-1 nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Molecular pharmacology*, 63(1), pp.65–72. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12488537>.
- Waters, L.J. et al., 2007. *Research Letters*. , 12(21), pp.2533–2549.
- Williamson, S., 2003. Adaptation in the env gene of HIV-1 and evolutionary theories of disease progression. *Molecular biology and evolution*, 20(8), pp.1318–25. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12777505> [Accessed February 17, 2014].
- Wilson, A.G. et al., 1993. An Allelic Polymorphism within the Human Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  Promoter Region Is Strongly Associated with HLA A1, B8, and DR3 Alleles. , 177(February), pp.557–560.
- Wolstein, O. et al., 2014. Preclinical safety and efficacy of an anti-HIV-1 lentiviral vector containing a short hairpin RNA to CCR5 and the C46 fusion inhibitor. *Molecular Therapy — Methods & Clinical Development*, 1(October 2013), p.11. Available at: <http://www.nature.com/articles/mtm201311> [Accessed February 25, 2014].
- World Health Organization, 2014. HIV/AIDS Data and Statistics. Available at: <http://www.who.int/hiv/data/en/> [Accessed July 6, 2014].
- World Health Organization, 2013. HIV/AIDS Data and Statistics. Available at: <http://www.who.int/hiv/data/en/> [Accessed July 6, 2014].

- World Health Organization, Review of Antiretroviral Therapy Guidelines in Select Countries of Africa and the Caribbean: A Challenge for Optimizing Treatment and Product Supply. , p.1. Available at: [http://www.who.int/hiv/amds/en/Standard\\_Treatment\\_Guidelines-Final.pdf](http://www.who.int/hiv/amds/en/Standard_Treatment_Guidelines-Final.pdf) [Accessed July 6, 2014].
- www.shcs.com, Swiss HIV Cohort Study. Available at: [www.shcs.com](http://www.shcs.com) [Accessed February 2, 2014].
- Wyen, C. et al., 2008. Impact of CYP2B6 983T>C polymorphism on non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor plasma concentrations in HIV-infected patients. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 61(4), pp.914–8. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3596857&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed October 28, 2013].
- Xie, M., Li, J. & Jiang, T., 2010. Accurate HLA type inference using a weighted similarity graph. *BMC bioinformatics*, 11 Suppl 1(Suppl 11), p.S10. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3024871&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed June 20, 2014].
- Yale University, 2014. Allele Frequency Database. Available at: <http://alfred.med.yale.edu/alfred/index.asp> [Accessed August 10, 2014].
- Yamamoto, K. et al., 1998. Contribution of two missense mutations (G71R and Y486D) of the bilirubin UDP glycosyltransferase (UGT1A1) gene to phenotypes of Gilbert's syndrome and Crigler–Najjar syndrome II. *Biochimica et Biophysica Acta*, pp.267–273.
- Yilmaz, A. et al., 2009. Darunavir concentrations in cerebrospinal fluid and blood in HIV-1-infected individuals. *AIDS research and human retroviruses*, 25(4), pp.457–61. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2853865&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Yokogawa, N. & Alcid, D. V., 2007. Acute fibrinous and organizing pneumonia as a rare presentation of abacavir hypersensitivity reaction. *Correspondence*, 21(15), pp.2111–2117.
- Zeigler-Johnson, C. et al., 2004. CYP3A4, CYP3A5, and CYP3A43 Genotypes and Haplotypes in the Etiology and Severity of Prostate Cancer. *CANCER RESEARCH*, 64, pp.8461–8467.
- Zha, B.S. et al., 2013. HIV protease inhibitors disrupt lipid metabolism by activating endoplasmic reticulum stress and inhibiting autophagy activity in adipocytes. *PloS one*, 8(3), p.e59514. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3606318&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed February 22, 2014].
- Zhu, D. et al., 2004. Influence of single-nucleotide polymorphisms in the multidrug resistance-1 gene on the cellular export of nelfinavir and its clinical implication for highly active antiretroviral therapy. *Antiviral therapy*, 9(6), pp.929–35. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15651752>.

# **ANEXO I**

## Principais fatores genéticos e a farmacocinética dos ARVs

Em seguida sumarizam-se os principais fatores genéticos que influenciam a farmacocinética dos diferentes antirretrovirais: inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa, inibidores não-nucleosídeos da transcriptase reversa e inibidores da protease.

**Principais polimorfismos genéticos que influenciam exposição aos fármacos antirretrovirais: (a) inibidores não-nucleosídeos da transcriptase reversa, (b) Inibidores da protease e (c) inibidores nucleosídeos da transcriptase reversa (adaptado de Rodríguez-Nóvoa et al. 2006).**

(a)	Enzimas Metabólicas Citocromo p450				Transportadores Proteicos MDR1 (PGP)	MHC
	2B6	3A4*1B	3A5	2D6		
Efavirenz	516G>T Farmacocinética: Níveis plasmáticos e concentração intracelular + alta com T/T Toxicidade: Mais queixas do SNC com T/T	392A>G Farmacocinética: AUC tende a ser mais elevada com G/G	6986A>G Farmacocinética: a AUC tende a ser + alta com G/G. Não existem diferenças noutros estudos	1846G>A 2549A>del Farmacocinética: Níveis plasmáticos tendem a ser + altos com alelos polimórficos	3435C>T Farmacocinética: mais baixo Cmin em T/T; Sem diferenças em outros estudos. Eficácia: melhor recuperação CD4 em T/T. Falta de resistência em T/T homozigotos	
Nevirapina	516G>T Farmacocinética: Níveis plasmáticos + altos com T/T				3435C>T Farmacocinética: mais alta Cmin em T/T. Toxicidade: o alelo T foi associado com um maior risco de hepatotoxicidade	HLA-DRB1*0101 Toxicidade: maior risco de reacções de hipersensibilidade
(b)	Enzimas Metabólicas			Transportadores Proteicos		Apolipoproteínas
	Citocromo p450		UGTs	MDR1 (PGP)	MRPs (MRP2)	
	3A5	2D6	1A1			
Nelfinavir		1846G>A 2549A>del 1707T>del Farmacocinética: Níveis tendem a ser mais altos		3435C>T Farmacocinética: Mais baixa Cmin no genótipo T/T; Mais elevada concentração intracelular em T/T. Eficácia: Melhor recuperação CD4 com o genótipo T/T		
Atazanavir			Alelo *7 Toxicidade: Maior risco de hiperbilirrubinemia	Farmacocinética: Baixos níveis com o genótipo T/T		
Indinavir	Alelo *3: Mais elevados níveis de indinavir no plasma		Alelo *28 Toxicidade: Maior risco de hiperbilirrubinemia		C-24T Farmacocinética: Uma tendência para uma mais alta clearance de IDV	
Ritonavir						Toxicidade - hiperlipidemia associada a: APOC3: Variantes promotoras (-C482T; -T455C) e 3 regiões variantes não traduzidas (C3238G) APOE: APOEε2 e APOEε3
(c)	Proteínas transportadoras		HLA			
	MRPs (MRP4)					
ABC						HLA B57, DR7, DQ3: associado a reacções de hipersensibilidade
3TC	(G3724A): Níveis + altos					
AZT	(G3724A): Níveis + altos					