



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA
LABORATÓRIO DE VIROLOGIA MOLECULAR

**ESTUDO DE ASSOCIAÇÃO ENTRE
POLIMORFISMOS GENÉTICOS HUMANOS E
EFEITOS ADVERSOS AO ANTIRRETROVIRAL
EFAVIRENZ EM INDIVÍDUOS HIV-1 POSITIVOS**

Tailah Bernardo de Almeida

Orientador: Prof.^a Dr.^a Cynthia Chester Cardoso

Rio de Janeiro

2018

Tailah Bernardo de Almeida

Estudo de Associação entre Polimorfismos Genéticos Humanos e Efeitos Adversos ao Antirretroviral Efavirenz em Indivíduos HIV-1 Positivos

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética, na Universidade Federal do Rio de Janeiro, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Genética).

Orientador: Prof.^a Dr.^a Cynthia Chester Cardoso

Rio de Janeiro

2018

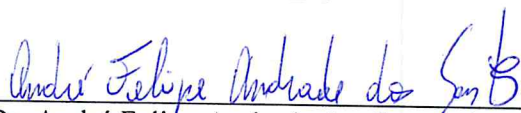
“Estudo de associação entre polimorfismos genéticos humanos e efeitos adversos ao antirretroviral Efavirenz em indivíduos HIV-1 positivos”

TAILAH BERNARDO DE ALMEIDA

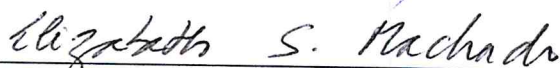
Orientadora: Dra. Cynthia Chester Cardoso

Tese de Doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Genética), Departamento de Genética da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Genética).

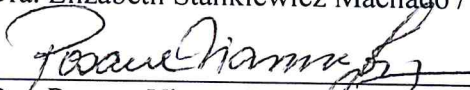
Aprovada em 16/7/2018, por:



Dr. André Felipe Andrade dos Santos / UFRJ



Dra. Elizabeth Stankiewicz Machado / IPPMG - UFRJ



Dra. Rosane Vianna Jorge / UFRJ



Dra. Jamila Alessandra Perini Machado / UEZO



Dr. Pedro Hernan Cabello Acero / FIOCRUZ

Dr. Antonio Bernardo de Carvalho / UFRJ - 1º. Suplente

Dr. José Carlos Couto Fernandez / FIOCRUZ - 2º. Suplente

Rio de Janeiro
Julho de 2018

de Almeida, Tailah Bernardo.

Estudo de associação entre polimorfismos genéticos humanos e efeitos adversos ao antirretroviral Efavirenz em indivíduos HIV-1 positivos / Tailah Bernardo de Almeida. – Rio de Janeiro: UFRJ / Instituto de Biologia, 2018.
126 f: il.; 31 cm.

Orientador: Cynthia Chester Cardoso.

Tese (doutorado) -- UFRJ, Instituto de Biologia, Programa de Pós-graduação em Genética, 2018.

Referências bibliográficas: f. 85-108.

1. Síndrome da imunodeficiência humana - quimioterapia. 2. HIV-1 – efeitos de drogas 3. Antirretrovirais – uso terapêutico. 4. Polimorfismo de base única. 5. Marcadores genéticos. 7. Predisposição genética para doença. 8. Rio de Janeiro. 9. Brasil. 10. Genética - Tese. I. Cardoso, Cynthia Chester. II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia, Programa de Pós-graduação em Genética. III. Título.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Virologia Molecular, Departamento de Genética, Universidade Federal do Rio de Janeiro, sob orientação da Prof.^a Dr.^a Cynthia Chester Cardoso e com período sanduíche na Vanderbilt University, sob coorientação do Dr David W. Haas.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora maravilhosa, Prof^a Cynthia, por ser a melhor orientadora do mundo. Obrigada por todos os ensinamentos, por estar sempre presente, por toda a parceria e confiança, pelas conversas nos meus momentos de crise, pelos conselhos e por todo o apoio nas minhas decisões. Não existem palavras que possam descrever o quanto eu sou grata por ter tido o enorme prazer de trabalhar e aprender com você. Que eu possa ser pelo menos 1/3 da profissional que você é! É muita admiração pela minha chefe mais amada! Obrigada, obrigada e obrigada!

Aos meus pais, minha tia, minha vó, meu irmão e namorado. Oferecendo suporte emocional (e financeiro muitas vezes), vocês acreditaram nas minhas ambições, me apoiaram nos momentos em que não fui tão forte e me deram conselhos preciosos. Obrigada por me acompanharem nessa caminhada.

Aos amigos do LVM, que sempre foram um motivo a mais para eu querer ir ao laboratório. Obrigada por todas as risadas, desabafos, gordices e conversas. Amo todos! Em especial ao Átila e à Paola, meus amigos iluminados e mais amados, que saudade vou sentir de vocês no meu dia-a-dia! E à Ana, minha francesinha querida, que sempre tem o conselho certo pra dar!

À minha psicóloga Jade, por ter me ajudado a sair da crise de “fim de doutorado”.

Ao CNPq e À Capes pelo apoio financeiro.

Aos pacientes do HUGG, que aceitaram participar deste estudo. Sem eles, essa tese não existiria.

To Dr Haas, for receiving me so well in Nashville. If I wasn't lucky enough to have Cynthia in my life, I had the opportunity to work with Dr Haas. I have learned a lot about being a better scientist during my time at Vanderbilt. Even more, I had the chance to meet and work with my scientific idol.

To Jen and Bree, my American bffs. I miss you so much, gals! You made my experience to live abroad so much easier! And Benji, my furry friend! Love y'all!

“Do you believe in dreams do you believe in dreamers
Hoping that you'll find what you're looking for
You don't have to worry cause there's a bright tomorrow”

Johnny Cash, “In a Young Girl’s Mind”

RESUMO

ALMEIDA, T. B. **Estudo de Associação entre Polimorfismos Genéticos Humanos e Efeitos Adversos ao Antirretroviral Efavirenz em Indivíduos HIV-1 Positivos.** 2018. Tese (Doutorado em Genética) – Programa de Pós Graduação em Genética, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2018.

O efavirenz (EFV) é amplamente utilizado na terapia anti-HIV. A presença de polimorfismos de base única (SNPs) em genes relacionados ao metabolismo deste fármaco tem sido associada a efeitos adversos ao EFV em diferentes populações. Entretanto, poucos estudos contemplam a farmacogenética do EFV em populações miscigenadas. O objetivo deste trabalho foi caracterizar, em uma coorte brasileira, a associação entre SNPs e efeitos adversos ao EFV. Foram incluídos no estudo 225 indivíduos HIV+ em tratamento no Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, com esquemas contendo EFV. Desses, foram selecionados 89 casos de efeitos adversos ao EFV dos quais 43 apresentaram sintomas relacionados ao sistema nervoso central (SNC). O grupo controle incluiu 136 indivíduos sem efeitos adversos a qualquer antirretroviral. Foram selecionados para o estudo um total de 67 SNPs em 7 genes relacionados ao metabolismo/transporte do EFV, além de 34 SNPs em 27 genes previamente relacionados a distúrbios psiquiátricos e 28 marcadores informativos de ancestralidade. As análises foram realizadas por modelos de regressão logística com ajuste para as variáveis sexo e ancestralidade genética. Os resultados obtidos demonstraram associação entre o genótipo 15582CC-516TT-983TT de *CYP2B6* (OR=6,83, p=0,005) e efeitos adversos ao EFV. O grupo de metabolizadores lentos de *CYP2B6* (516TT ou 516GT-983CT) também foi associado a efeitos adversos ao EFV (OR=3,10, p=0,04). Os SNPs rs4646437 (*CYP3A4*, OR=4,63, p=0,014) e rs8070473 (*SLFN12L*, OR=3,15, p=0,039) foram associados a efeitos adversos no SNC. Esses resultados sugerem que SNPs envolvidos no metabolismo/transporte do EFV e aqueles relacionados a distúrbios psiquiátricos podem afetar a resposta à terapias contendo EFV na população brasileira. Esse conhecimento poderá auxiliar na prescrição de terapias mais seguras para os indivíduos HIV-positivos.

Palavras-chave: HIV. Efavirenz. Farmacogenética. Efeitos Adversos. SNPs.

ABSTRACT

ALMEIDA, T. B. **Association Study between Human Genetic Polymorphisms and Adverse Effects to the Antiretroviral Efavirenz in HIV-1 Positive Individuals.** 2018. Tese (Doutorado em Genética) – Programa de Pós Graduação em Genética, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2018.

Efavirenz (EFV) is broadly used in the HIV therapy. The presence of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in EFV metabolizing genes has been associated to EFV adverse effects in different populations. However, data regarding EFV pharmacogenetics in admixed populations are still scarce. The aim of this study was to characterize the association between SNPs and EFV adverse effects in a Brazilian cohort. The study included 225 HIV-positive individuals undergoing treatment with EFV-containing regimens at Hospital Universitário Gaffrée e Guinle. Of these, eighty-nine cases of EFV adverse effects were selected, including 43 with central nervous system (CNS) related symptoms. The control group included 136 individuals without adverse effects to any antiretroviral. A total of 67 SNPs in 7 genes related to EFV metabolism/transport were selected for the study, in addition to 34 SNPs in 27 genes previously related to psychiatric disorders and 28 ancestry-informative markers. Analyses were performed through logistic regression models adjusted for sex and genetic ancestry. Results showed association between the *CYP2B6* genotype 15582CC-516TT-983TT (OR=6.83, p=0.005) and EFV adverse effects. *CYP2B6* slow metabolizer group (516TT or 516GT-983CT) was also associated to EFV adverse effects (OR=3.10, p=0.04). The SNPs rs4646437 (*CYP3A4*, OR=4.63, p=0.014) and rs8070473 (*SLFN12L*, OR=3.15, p=0.039) were associated to CNS EFV adverse effects. These data suggest that SNPs involved in EFV metabolism/transport or related to psychiatric disorders could affect the response to EFV-containing regimens in a Brazilian cohort. This knowledge may help to define safer therapies to HIV-positive individuals.

Key-words: HIV. Efavirenz. Pharmacogenetics. Adverse Effects. SNPs

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Esquema representativo do número estimado de pessoas infectadas pelo HIV, por continente, em 2016. Os números entre colchetes representam o intervalo de confiança dos valores em negrito. **16**
- Figura 2** - Esquema representando o ciclo replicativo do HIV, demonstrando em que etapa os antirretrovirais atuam (melhor descrito no item 1.5). O ciclo inicia-se a partir da interação entre proteínas presentes no envelope viral e na membrana celular, levando à fusão do vírus à célula hospedeira. Em seguida, concomitante ao processo de “desnudamento”, o RNA viral é retrotranscrito pela ação da enzima transcriptase reversa. O DNA viral formado é integrado ao genoma celular através da enzima integrase. Uma vez integrado, o provírus pode ser transcrito em RNAm que será traduzido em proteínas virais ou utilizado como material genético para a formação de novas partículas virais. Após a montagem das novas partículas, ocorre o brotamento destas na membrana celular. A enzima protease realiza a maturação dos vírions, que podem então, iniciar um novo ciclo replicativo. ITRN = Inibidor de Transcriptase Reversa Nucleosídico; ITRNN = Inibidor de Transcriptase Reversa Não Nucleosídico. **20**
- Figura 3** - Gráfico representativo da progressão da infecção pelo HIV na ausência de tratamento antirretroviral. A infecção pelo HIV pode ser dividida nas fases: aguda, crônica e de Aids. O perfil de contagem de linfócitos T CD4+ (em azul) e viremia (em vermelho) varia entre essas 3 fases. **22**
- Figura 4** - Via metabólica do efavirenz no hepatócito. CYP2B6 é a principal responsável pela formação do metabólito 8-hidroxi-efavirenz, enquanto CYP3A4/5 e CYP2A6 atuam minoritariamente. CYP2A6 atua ainda na formação do metabólito 7-hidroxi-efavirenz. Os fatores de transcrição NR1I2 e NR1I3 são capazes de regular a expressão dos genes das CYPs. A glicoronidação é mediada pela enzima da família UGT, UGT2B7, formando metabólitos que serão excretados na urina. **31**
- Figura 5** - Expressão de *SLFN12L* em diferentes regiões cerebrais em função dos genótipos de rs8070473. O eixo Y representa o nível de expressão gênica em uma escala logarítmica. O eixo x representa os genótipos de rs8070473 para cada região cerebral e o p-valor obtido quando comparados os níveis de expressão gênica de cada genótipo em uma mesma região. MEDU = medula; SNIG = Substância nigra; WHMT = Substância branca; THAL = Tálamo; PUTM = Putamen; TCTX = Córtex Temporal; HIPP = Hipotálamo; OCTX = Córtex Occipital; CRBL = Córtex Cerebelar. **79**
- Figura 6** - Expressão de *FHIT* em diferentes regiões cerebrais em função dos genótipos de rs9825823. O eixo Y representa o nível de expressão gênica em uma escala logarítmica. O eixo x representa os genótipos de rs9825823 para cada região cerebral e o p-valor obtido quando comparados os níveis de expressão gênica de cada genótipo em uma mesma região. MEDU = medula; SNIG = Substância nigra; WHMT = Substância branca; THAL = Tálamo; PUTM = Putamen; TCTX = Córtex Temporal; HIPP = Hipotálamo; OCTX = Córtex Occipital; CRBL = Córtex Cerebelar. **80**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3TC	Lamivudina
5-HT2A	5-hidroxitriptamina subtipo 2A
5-HT2C	5-hidroxitriptamina subtipo 2C
5-HT3A	5-hidroxitriptamina subtipo 3A
5-HT6	5-hidroxitriptamina subtipo 6
A	Adenina
ABC	Abacavir
ABCB1	do inglês <i>ATP-binding cassette protein subfamily B member1</i>
ADME	Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção
aids	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, do inglês <i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
ARV	Antirretroviral
ATV	Atazanavir
AZT	Zidovudina
C	Citosina
CAR	Receptor Constitutivo de Androstano, do inglês <i>Constitutive Androstane Receptor</i>
cART	Terapia Antirretroviral Combinada
CRBL	Córtex Cereberal
CYP	Citocromo P450
CYP2A6	Citocromo P450 família 2 subfamília A, membro 6
CYP2B6	Citocromo P450 família 2 subfamília B, membro 6
CYP3A4	Citocromo P450 família 3 subfamília A, membro 4
CYP3A5	Citocromo P450 família 3 subfamília A, membro 5
d4T	Estavudina
ddl	Didanosina
DLV	Delavirdina
DNA	Ácido Desoxiribonucleico, do inglês <i>Desoxyribonucleic Acid</i>
DRV	Darunavir
DTG	Dolutegravir
EFV	Efavirenz
ETR	Etravirina

EVG	Elvitegravir
FDA	do inglês <i>Food and Drug Administration</i>
FHIT	do inglês <i>Fragile Histidine Triad</i>
FPV	Fosamprenavir
FTC	Emtricitabina
G	Guanina
GABA	do inglês <i>Gama-aminobutyric Acid</i>
GWAS	do inglês <i>Genome-Wide Association Study</i>
HDAC	Complexos de Histonas Desacetilases, do inglês <i>Histone Deacetylase Complexes</i>
HIPP	Hipotálamo
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana, do inglês <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HLA	Antígeno Leucocitário Humano, do inglês <i>Human Leukocyte Antigen</i>
HTR2A	do inglês <i>5-Hydroxytryptamine Receptor 2A</i>
HTR2B	do inglês <i>5-Hydroxytryptamine Receptor 2B</i>
HTR6	do inglês <i>5-Hydroxytryptamine Receptor 6</i>
IDV	Indinavir
ITRN	Inibidor de Transcriptase Reversa Nucleosídico
ITRNN	Inibidor de Transcriptase Reversa Não-Nucleosídico
LPV	Lopinavir
LSD	do inglês <i>Lysergic Acid Diethylamide</i>
LTR	do inglês <i>Long Terminal Repeat</i>
MEDU	Medula
mg	Miligrama
mL	Mililitro
mm³	Milímetro cúbico
NFV	Nelfinavir
ng	Nanograma
NVP	Nevirapina
NR1I2	do inglês <i>Nuclear Receptor Subfamily 1 Group I Member 2</i>
NR1I3	do inglês <i>Nuclear Receptor Subfamily 1 Group I Member 3</i>
OCTX	Córtex Occipital
OMS	Organização Mundial de Saúde

OR	Razão de Chances, do inglês <i>Odds Ratio</i>
pb	Pares de base
PBS	Sítio de Ligação à Iniciadores, do inglês <i>Primer Binding Site</i>
PIC	Complexo de Pré-Integração, do inglês <i>Pre-Integration Complex</i>
P-gp	Glicoproteína P
PGR	Receptor de Progesterona
PUTM	Putamen
PXR	Receptor de Pregnano, do inglês <i>Pregnane X Receptor</i>
RAL	Raltegravir
RNA	Ácido Ribonucléico, do inglês <i>Ribonucleic Acid</i>
RNAm	RNA mensageiro
RTC	Complexo de Transcrição Reversa, do inglês <i>Reverse Transcription Complex</i>
RTV	Ritonavir
RXR	Receptor Retinóide X, do inglês <i>Retinoid X Receptor</i>
SLC6A2	do inglês <i>Solute Carrier Family 6 Member 2</i>
SLC6A3	do inglês <i>Solute Carrier Family 6 Member 3</i>
SLFN12L	do inglês <i>Schlafen Family Member 12 Like</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
SNIG	Substância nigra
SNP	Polimorfismos de Base Única, do inglês <i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
SQV	Saquinavir
T	Timina
T20	Enfuvirtida
TARV	Tratamento Antirretroviral
TCTX	Cortéx Temporal
TDF	Tenofovir
THAL	Tálamo
TPV	Tipranavir
TR	Transcriptase Reversa
UGT	UDP Glucuronosil Transferase
UGT1A1	Uridina-Difosfato-Glicuronosil-Transferases Família 1 subfamília A, membro 1

UGT2B7

Uridina-Difosfato-Glicuronosil-Transferases Família 2
subfamília B, membro 7

WHMT

Substância branca, do inglês *White matter*

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
1.1 VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA	15
1.1.1 História e Epidemiologia	15
1.1.2 Classificação Filogenética	16
1.1.3 Estrutura e Genoma	17
1.2 CICLO REPLICATIVO DO HIV	18
1.3 PROGRESSÃO DA INFECÇÃO PELO HIV	20
1.4 TRATAMENTO ANTIRRETROVIRAL (TARV)	22
1.4.1 Inibidores de fusão	23
1.4.2 Inibidores de entrada	24
1.4.3 Inibidores de retrotranscrição	24
1.4.4 Inibidores de integrase	25
1.4.5 Inibidores de protease	26
1.4.6 Esquemas terapêuticos	26
1.5 O INIBIDOR DE TRANSCRIPTASE REVERSA NÃO NUCLEOSÍDICO (ITRNN) EFAVIRENZ	27
1.6 EFEITOS ADVERSOS AO EFAVIRENZ	28
1.7 FARMACOCINÉTICA DO EFAVIRENZ	30
1.7.1 Citocromo P450	32
1.7.1.1 CYP2B6: a principal enzima metabolizadora	32
1.7.1.2 CYP2A6	33
1.7.1.3 CYP3A4 e CYP3A5	33
1.7.1 UGTs	34
1.7.3 PXR e CAR	34
1.8 FARMACOGENÉTICA DO EFAVIRENZ	35
1.8.1 Farmacogenética dos genes de ADME	35
1.8.1.1 <i>CYP2B6</i>	35
1.8.1.2 <i>CYP2A6</i>	37
1.8.1.3 <i>CYP3A4</i> e <i>CYP3A5</i>	37
1.8.1.4 <i>UGT2B7</i>	38
1.8.1.5 <i>NR1I2</i> (PXR) e <i>NR1I3</i> (CAR)	39
1.8.1.6 <i>ABCB1</i>	39

1.9 DESENVOLVIMENTO DE EFEITOS ADVERSOS AO EFV NO SNC: FATORES GENÉTICOS ADICIONAIS.....	40
2. OBJETIVOS.....	42
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	42
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	42
3. ARTIGO “DRUG METABOLISM AND TRANSPORT GENE POLYMORPHISMS AND EFAVIRENZ ADVERSE EFFECTS IN BRAZILIAN HIV-POSITIVE INDIVIDUALS”	43
3.1 CONTRIBUIÇÃO NO TRABALHO	43
4. MANUSCRITO DO ARTIGO “EFAVIRENZ CENTRAL NERVOUS SYSTEM EFFECTS AND PSYCHIATRIC DISORDER-RELATED GENETIC POLYMORPHISMS IN HIV-POSITIVE BRAZILIANS.....	55
4.1 CONTRIBUIÇÃO NO TRABALHO	55
5. DISCUSSÃO	76
6. CONCLUSÕES	84
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85
APÊNDICE A - ARTIGO “SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN CELLULAR DRUG TRANSPORTERS ARE ASSOCIATED WITH INTOLERANCE TO ANTIRETROVIRAL THERAPY IN BRAZILIAN HIV-1 POSITIVE INDIVIDUALS .	110
APÊNDICE B – QUADRO CONTENDO POLIMORFISMOS ASSOCIADOS À DOENÇAS NEUROPSIQUIÁTRICAS	121
ANEXO A – APROVAÇÃO DO ESTUDO PELO COMITÊ DE ÉTICA	124
ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	125

1. INTRODUÇÃO

1.1. VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA

1.1.1 História e Epidemiologia

Em 1981 ocorreram as primeiras descrições de uma doença que gerava um imunocomprometimento sem causa aparente, afetando principalmente homens jovens, e que se caracterizava pelo desenvolvimento de doenças oportunistas, como sarcoma de Kaposi e pneumonia. Logo foi observado que a deficiência imune era causada por uma depleção de linfócitos T CD4+ (GOTTLIEB et al., 1981; MASUR et al., 1981). Em 1982, usuários de drogas injetáveis e receptores de transfusão sanguínea também passaram a apresentar a doença, que foi então associada a um agente infeccioso e denominada Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (Aids, do inglês *Acquired Immunodeficiency Syndrome*) (CDC, 1982).

O agente causador da Aids foi caracterizado como um retrovírus e posteriormente identificado como Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV-1 e 2) pelo grupo do pesquisador francês Luc Montagnier (BARRÉ-SINOUSSE et al., 1983; COFFIN, J. et al., 1986). O HIV-1 foi isolado a partir de amostras de pacientes no ano de 1983 e recebeu esta nomenclatura apenas em 1986, pelo Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (BARRÉ-SINOUSSE et al., 1983; BUBNOFF; MCENERY, 2011). Nesse mesmo ano, o HIV-2 foi isolado, também pelo grupo de Montagnier, em dois pacientes da África Ocidental (CLAVEL et al., 1986; WEISS, 2008).

Em 2016, foi estimado que 36,7 milhões de pessoas estavam infectadas pelo HIV em todo o mundo e que ocorreram 1,8 milhões de novas infecções (Figura 1). Ainda no mesmo ano, 1 milhão de pessoas chegaram a óbito em decorrência da Aids. Desde que essa doença foi identificada, a infecção pelo HIV já resultou na morte de aproximadamente 35 milhões de pessoas (UNAIDS, 2017).

Em relação ao Brasil, as regiões Sul e Sudeste concentram a maior parte dos casos de HIV/Aids (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017a). Em 2016, existiam aproximadamente 830 mil pessoas infectadas pelo HIV no país e, nesse mesmo ano, 14 mil pessoas morreram em decorrência da Aids (UNAIDS, 2017). A taxa de detecção de Aids tem diminuído gradativamente ao longo dos anos no Brasil, mostrando que as

medidas preventivas tomadas pelo Ministério da Saúde têm sido efetivas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017a). No ano de 2015, as despesas relacionadas ao HIV atingiram US\$ 794 milhões (UNAIDS, 2017).

Estimativa de adultos e crianças vivendo com HIV | 2016



Figura 1 – Esquema representativo do número estimado de pessoas infectadas pelo HIV, por continente, em 2016. Os números entre colchetes representam o intervalo de confiança dos valores em negrito. Adaptado de UNAIDS, 2017.

1.1.2 Classificação Filogenética

O HIV faz parte do gênero *Lentivirus*, que agrupa os vírus com longo período de incubação e causadores de doenças crônicas, e da família *Retroviridae*, a qual se caracteriza pela presença da enzima transcriptase reversa (TR), capaz de retrotranscrever o genoma viral de RNA para DNA (COFFIN, J., 1992). O vírus pode ser dos tipos 1 e 2. Já foram identificados nove grupos de HIV-2, classificados de A à I, sendo que apenas A e B são endêmicos (GAO, F. et al., 1994; VISSEAUX et al., 2016). O HIV-1 é responsável por mais de 95% das infecções em todo o mundo e pode ser classificado em grupos e subtipos. Os grupos de HIV-1 são quatro: grupo N (do inglês *non-M* e *non-O*), grupo O (do inglês *outlier*), grupo P (de putativo) e um grupo majoritário M (PLANTIER et al., 2009). O grupo M apresenta os subtipos A, B, C, D, F, G, H, J e K, sendo que em A e F ainda existem as subdivisões A1, A2, A3,

A4, A5, F1 e F2 (GÜRTLER et al., 1994; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016; ROBERTSON et al., 2000; SIMON et al., 1998; TEBIT; ARTS, 2011; VALLARI et al., 2010).

Vírus pertencentes aos grupos N, O e P possuem distribuição restrita a países da África Central e Ocidental, sendo assim o grupo M o principal responsável pelas infecções por HIV-1 (ROBERTSON et al., 2000). A distribuição mundial dos subtipos de HIV-1 é bastante heterogênea, sendo o subtipo C o mais prevalente, responsável por 48% das infecções em todo o mundo (HEMELAAR et al., 2011). Ele prevalece nos países da África Subsaariana e Oriental, na Índia e países vizinhos, e na região sul do Brasil. O subtipo B é a variante mais disseminada ao longo do globo, predominando nos países desenvolvidos como EUA, países da Europa Ocidental, Japão e Austrália. Os demais subtipos de HIV-1 (D, F, G, H, J e K) representam juntos apenas 10% das infecções incidentes (dados de 2004) (HEMELAAR et al., 2006).

A distribuição dos subtipos do HIV-1 possui uma ampla variação no Brasil. O subtipo B é o que possui maior prevalência (66,8%), seguido pelos subtipos C (14,2%) e F (8,1%). Contudo, na região Sul, observa-se o subtipo C como o mais prevalente (53,8%), seguido pelos subtipos B (30,8%) e F (3,3%) (ARRUDA et al., 2018).

1.1.3 Estrutura e Genoma

O HIV é uma partícula esférica de 100 a 120 nm de diâmetro, formada por envelope fosfolipídico, núcleo-capsídeo proteico e que possui como material genético duas fitas simples de RNA de polaridade positiva, capeados e poliadenilados, com aproximadamente 9400 pares de base (pb) (ALIZON et al., 1984; COFFIN, J., 1992).

O genoma do HIV-1 é constituído por 3 genes principais – *gag*, *pol* e *env* (KASHANCHI; WOOD, 1989). A partir de *gag* é codificada a proteína p55, da qual são formadas p24, p6, p9 e p17, proteínas estruturais do capsídeo. As glicoproteínas formadoras do envelope viral são codificadas por *env*, sendo inicialmente formada gp160, que é clivada em gp120, projetada na superfície viral, e gp41, glicoproteína transmembrana, associada a gp120. Já o gene *pol* codifica as proteínas p66 e p51, que formam a TR, a enzima integrase e a protease (FRANKEL; YOUNG, 1998; WAIN-HOBSON et al., 1985). O genoma do HIV-1 possui ainda os genes *tat*, *rev*, *nef*, *vpu*, *vpr* e *vif*, os quais apresentam funções acessórias ou regulatórias e participam de

processos tais como a transcrição reversa e a tradução das proteínas virais (FUJITA et al., 2010).

1.2 CICLO REPLICATIVO DO HIV

O HIV tem como alvos de infecção no hospedeiro, inicialmente, linfócitos e macrófagos. O primeiro receptor presente na superfície celular identificado e com papel principal na ligação ao HIV foi a molécula CD4 (BOUR; GELEZIUNAS; WAINBERG, 1995; MADDON et al., 1986). Contudo, apenas CD4 não é suficiente para a fusão de HIV-1 à membrana e sua entrada na célula, sendo necessária a participação do receptor de β -quimiocinas CCR5 e do receptor de α -quimiocinas CXCR4. Ambos atuam como correceptores no momento da entrada na célula.

A expressão dos correceptores varia entre linhagens celulares. Logo, de acordo com o tropismo viral (especificidade do vírus a determinado correceptor), diferentes tipos celulares serão infectados (ALKHATIB et al., 1996; BERGER; MURPHY; FARBER, 1999; FENG et al., 1996). A porção variável V3 da proteína do envelope gp120 é a principal determinante na especificidade do HIV-1 ao correceptor (O'BRIEN et al., 1990; SPECK et al., 1997).

A entrada do vírus se inicia, então, com a interação entre a proteína do envelope gp120 e a molécula de CD4. Essa ligação altera a conformação de gp120, aumentando sua afinidade ao correceptor e formando um complexo ternário. Isso induz mudanças conformacionais em gp41, levando ao seu redobramento e exposição do peptídeo de fusão, que se insere na membrana da célula hospedeira (CHAN; KIM, 1998). Uma vez inserido, domínios presentes nesse peptídeo formam uma estrutura de seis hélices e a energia liberada com essa transição estrutural é suficiente para causar uma interação entre as bicamadas lipídicas e fusão entre envelope viral e membrana celular (MELIKYAN et al., 2000).

Após a fusão, ocorre a entrada do capsídeo viral no citoplasma da célula hospedeira (ECKERT; KIM, 2001) e sua desestruturação parcial, acompanhada de um rearranjo das proteínas associadas ao genoma viral. O processo de “desnudamento” leva à formação de um Complexo de Transcrição Reversa (RTC, do inglês *Reverse Transcription Complex*), onde tem início a retrotranscrição do RNA viral e a formação de um Complexo de Pré-integração (PIC, do inglês *Pre-Integration*

Complex), constituído por proteínas virais e celulares envolvidas na integração do genoma viral ao genoma da célula hospedeira (FASSATI; GOFF, 2001). A retrotranscrição se inicia com a ligação de um RNA transportador, utilizado como iniciador, ao sítio de ligação a iniciadores (PBS, do inglês *primer binding site*) presente no RNA viral (GAO et al., 1993; ISEL et al., 1996).

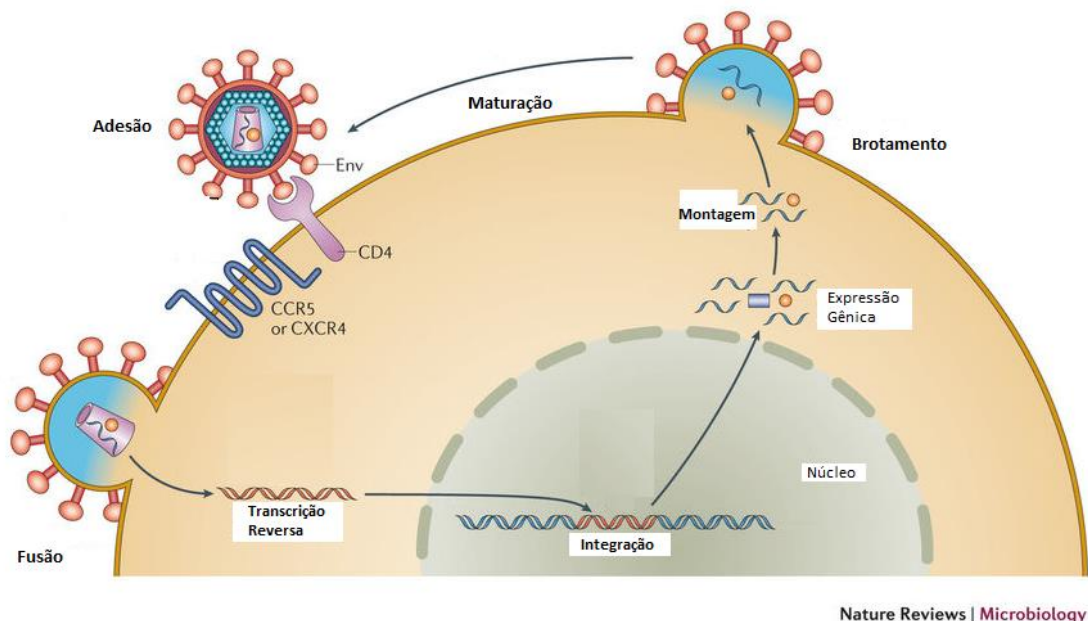
A síntese de DNA viral se dá a partir da extremidade 5' da molécula de RNA, gerando assim um híbrido de DNA e RNA, sendo a porção RNA desse híbrido degradada devido à atividade RNaseH da TR. Durante a retrotranscrição, a TR pode saltar entre as duas fitas de RNA viral, o que acaba por gerar formas recombinantes. Ainda mais, essa enzima não possui atividade revisora, o que leva à incorporação de bases incorretas, inserções e/ou deleções com uma frequência aproximada de 1 mutação a cada 10.000 nucleotídeos, por ciclo de replicação (COFFIN, 1995). O produto final da transcrição reversa é o DNA proviral: uma molécula de DNA dupla-fita, com as extremidades LTR (do inglês, *long terminal repeat*). O DNA viral é então transportado ao núcleo da célula hospedeira como parte do PIC (GARTNER et al., 1986; WEINBERG et al., 1991).

Após o importe do PIC, a proteína integrase catalisa a inserção do DNA viral linear e dupla-fita no cromossomo da célula hospedeira. O processo de integração se inicia com a remoção de nucleotídeos da extremidade 3' de ambas fitas de DNA viral pela integrase, gerando terminações não coesivas. No núcleo, a integrase cliva também o DNA celular e, a partir das extremidades formadas, liga o DNA viral processado, em uma reação chamada de transferência de fita. O processo de integração ocorre em regiões aleatórias do genoma, porém, com baixa condensação da cromatina (BRADY et al., 2009; BROWN et al., 1989; ROTH; SCHWARTZBERG; GOFF, 1989). O processo de integração se completa quando enzimas de reparo celular preenchem os espaços entre o DNA viral e o DNA da célula hospedeira. O DNA viral integrado passa então a ser chamado de próvirus e comporta-se como um gene celular, servindo como molde para a síntese de RNA viral (BROWN, 1997).

A transcrição do RNA viral é dependente da enzima celular RNA polimerase II e da interação entre proteínas regulatórias celulares com o promotor do HIV, localizado no 5' LTR viral (FREED; MARTIN, 2001). Os RNAs são então processados e os RNAm (RNA mensageiro) são transportados através de poros nucleares para o citoplasma, onde serão traduzidos (CULLEN, 2003). Uma vez que o RNA e todas as

poliproteínas virais se acumularam no citoplasma, pode ser iniciada a formação de novas partículas virais.

Durante ou posteriormente à liberação das partículas virais na membrana celular, a proteína viral protease cliva os precursores de gag e a poliproteína gag-pol, formando as proteínas maduras gag e pol. Em seguida, ocorrem diversos rearranjos estruturais que resultam na maturação do vírion. Uma vez maduro, o vírion está pronto para infectar outras células, iniciando assim um novo ciclo (KOHL et al., 1988). A figura 2 esquematiza o ciclo replicativo completo do HIV.



Nature Reviews | Microbiology

Figura 2- Esquema representando o ciclo replicativo do HIV. O ciclo inicia-se a partir da interação entre proteínas presentes no envelope viral e na membrana celular, levando à fusão do vírus à célula hospedeira. Em seguida, concomitante ao processo de “desnudamento”, o RNA viral é retrotranscrito pela ação da enzima transcriptase reversa. O DNA viral formado é integrado ao genoma celular através da enzima integrase. Uma vez integrado, o provírus pode ser transcrito em RNAm que será traduzido em proteínas virais ou utilizado como material genético para a formação de novas partículas virais. Após a montagem das novas partículas, ocorre o brotamento destas na membrana celular. A enzima protease realiza a maturação dos vírions, que podem então, iniciar um novo ciclo replicativo. Adaptado de LASKEY; SILICIANO, 2014.

1.3 PROGRESSÃO DA INFECÇÃO PELO HIV

Assim que ocorre a transmissão do HIV, há inicialmente a infecção de linfócitos T CD4+, macrófagos e células dendríticas. Por um período aproximado de 10 dias, conhecido como fase eclipse, o RNA viral não é detectado no plasma do indivíduo infectado. O pico de viremia ocorre 21 a 28 dias após a exposição ao HIV e acarreta um declínio acentuado na contagem de linfócitos T CD4+, caracterizando assim a fase

aguda da infecção, que dura em torno de 3 meses. Nesta fase podem ser formados os reservatórios virais, nos quais o genoma viral integrado tem sua transcrição reprimida, estabelecendo a latência viral. Uma vez que as proteínas virais não são formadas, os reservatórios virais conseguem escapar do sistema imune do hospedeiro, persistindo por um longo período de tempo. Ainda mais, a latência viral representa um obstáculo para a erradicação completa da infecção, uma vez que permite a permanência do vírus mesmo com a administração da terapia anti-HIV (ALEXAKI; LIU; WIGDAHL, 2008; POPE; HAASE, 2003).

A disseminação sistêmica do vírus promove a indução da resposta imunológica. Contudo, esta é tardia e não é suficiente para erradicar a infecção, uma vez que há proliferação de linfócitos T CD4+, que tornam-se alvo para novas infecções. Simultaneamente existe um aumento na produção de linfócitos T CD8+, que controlam parcialmente a infecção. Entretanto, na ausência de tratamento, esta resposta é também insuficiente para impedir a diminuição lenta e progressiva de linfócitos T CD4+ e conseqüentemente, a progressão para Aids (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

A ativação dos linfócitos T citotóxicos CD8+ específicos contra o HIV acontece geralmente antes da soroconversão (aparecimento dos primeiros anticorpos anti-HIV) (BORROW et al., 1994). A indução dessa resposta imune celular específica, associada à posterior produção de anticorpos anti-HIV promove então a queda da viremia (etapa conhecida como *set point*), caracterizando o início de uma fase assintomática e crônica da infecção pelo HIV (KAHN; WALKER, 1998; TELENTI; CARRINGTON, 2008). Todavia, com o avanço da infecção, há uma exaustão do sistema imune, levando a uma grande queda no número de linfócitos T CD4+ (<200 células/mm³) e a um aumento da replicação viral. Estes fatores favorecem o surgimento de infecções oportunistas, como pneumonia, tuberculose disseminada, neurotoxoplasmose e infecções fúngicas, caracterizando a fase de Aids (BROOKS et al., 2009; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Durante a fase de Aids, o número de células T CD4+ continua a decair e são frequentemente detectadas no paciente anemia e uma acentuada linfopenia. Estima-se que, na ausência de tratamento, o tempo médio entre o início da infecção até a morte relacionada à Aids é de aproximadamente 11 anos. Porém, é importante ressaltar que a progressão da doença é extremamente variável, dependendo do

potencial infeccioso do vírus e da resposta do hospedeiro a ele (FANALES-BELASIO et al., 2010). A figura 3 representa a progressão da infecção pelo HIV.

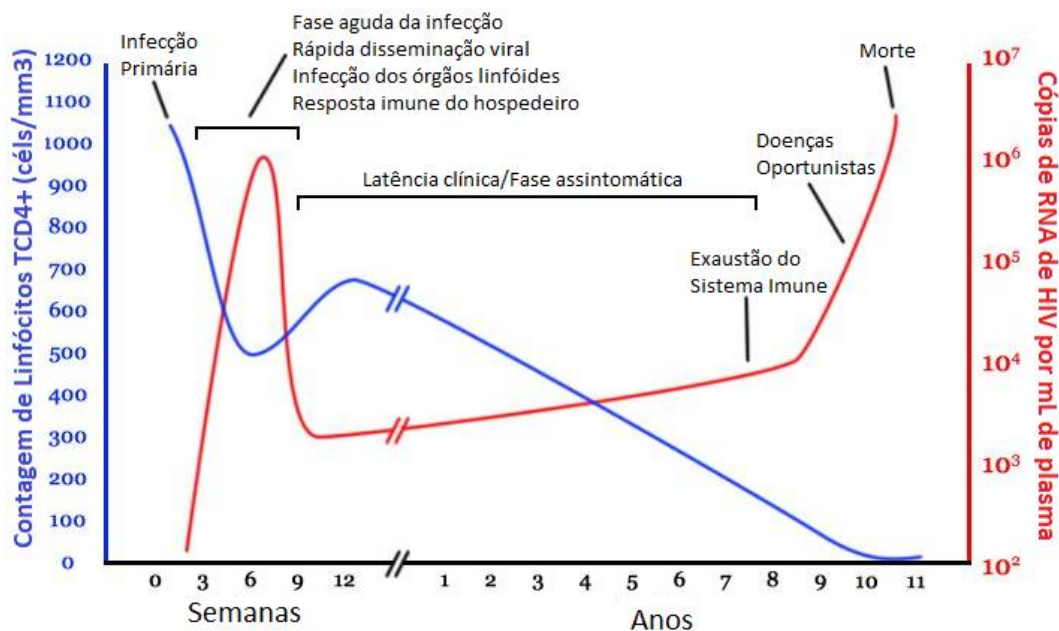


Figura 3 – Gráfico representativo da progressão da infecção pelo HIV na ausência de tratamento antirretroviral. A infecção pelo HIV pode ser dividida nas fases: aguda, crônica e de Aids. O perfil de contagem de linfócitos T CD4+ (em azul) e viremia (em vermelho) varia entre essas 3 fases. Adaptado de BENNETT; GILROY, 2014.

1.4 TRATAMENTO ANTIRRETROVIRAL (TARV)

Os primeiros antirretrovirais (ARVs) surgiram na década de 1980, como uma estratégia para impedir a multiplicação do HIV no organismo. O uso desses medicamentos tem permitido uma melhor qualidade de vida, um aumento da sobrevivência dos pacientes HIV-positivos e também uma diminuição da transmissão viral (COHEN et al., 2011; WILSON et al., 2008). Segundo dados da UNAIDS, 20,9 milhões de pessoas tiveram acesso ao TARV no ano de 2016 no mundo. Nesse mesmo ano, aproximadamente 490 mil pessoas estavam recebendo o tratamento anti-HIV no Brasil, o que representa 60% dos indivíduos HIV-positivos diagnosticados no país. Destes, 90% alcançaram carga viral indetectável (UNAIDS, 2017).

Desde 1996, o governo brasileiro distribuiu os medicamentos antirretrovirais para todos os indivíduos HIV-positivos considerados elegíveis para o tratamento. Até o ano de 2013, os critérios de elegibilidade incluíam uma contagem de linfócitos T CD4+ inferior a 500 células por mm³. No fim de 2013, o Ministério da Saúde estabeleceu a

política de iniciar o tratamento para todos os indivíduos HIV-positivos, independentemente da contagem de linfócitos T CD4 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018b). Como possível consequência disso, observou-se uma redução de 7,2% na taxa de mortalidade por HIV/Aids a partir desse período (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017a). Da mesma maneira, a Organização Mundial de Saúde (OMS) recomenda que o TARV deve ser iniciado imediatamente para adultos, adolescentes e crianças, independentemente da contagem de células T CD4+ ou estágio da doença (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2015).

Os ARVs têm como alvos diferentes etapas do ciclo replicativo, podendo ser divididos em: inibidores de fusão, inibidores de entrada, inibidores de retrotranscrição, inibidores de integrase e inibidores de protease. Até a presente data, existem 22 medicamentos anti-HIV aprovados pelo FDA disponíveis para uso no mercado (do inglês, *Food and Drug Administration*). Tais medicamentos também são encontrados em combinações de dose fixa, contendo dois ou mais ARVs de diferentes classes em um mesmo comprimido (FDA, 2018; NIH, 2017).

Alguns ARVs deixaram de ser recomendados para uso, uma vez que apresentam baixa eficácia, alta toxicidade ou posologia que dificulta a adesão. Esse é o caso de delavirdina (DLV), didanosina (ddI), indinavir (IDV), nelfinavir (NFV) e estavudina (d4T) (NIH, 2017). Pesquisadores continuam investindo no desenvolvimento de novos tipos de medicamentos anti-HIV (DE CLERCQ, 2009). Uma das razões para isso é a existência de cepas virais resistentes aos ARVs atuais, o que diminui a eficácia do tratamento. Ainda mais, busca-se por ARVs mais seguros e também que possuam uma ação mais longa, podendo ser ingeridos com frequência menor do que os existentes, que são administrados diariamente. Um medicamento de ação prolongada poderia melhorar a adesão ao TARV, ser menos tóxico e ter um custo-benefício maior (NIH, 2017b).

As principais características de cada uma das classes de ARVs serão descritas nos itens seguintes.

1.4.1 Inibidores de fusão

Os inibidores de fusão atuam como antagonistas dos receptores celulares envolvidos na interação com o HIV, prevenindo a ligação da glicoproteína de envelope gp120 com os receptores ou correceptores celulares. Com isso, as mudanças

conformacionais em gp41, necessárias para ocorrer a fusão das membranas, são inibidas. Enfuvirtida (T20 ou Fuzeon) é o único inibidor de fusão aprovado pelo FDA. Trata-se de um peptídeo baseado na sequência de gp41, ligando-se competitivamente a ela (EGGINK; BERKHOUT; SANDERS, 2010). Recomenda-se a administração do T20 como uma terapia de resgate, em pacientes que não responderam bem ao tratamento com outros medicamentos anti-HIV (AIDSINFO, 2017).

1.4.2 Inibidores de entrada

O medicamento utilizado no TARV como inibidor de entrada é o maraviroc, que atua como um antagonista do correceptor CCR5, inibindo sua interação com a gp120. Este medicamento é recomendado para pacientes em falha terapêutica, caracterizada pela insuficiência em atingir carga viral indetectável (<50 cópias de vírus por mL de plasma sanguíneo) e/ou pelo declínio na contagem de linfócitos T CD4+ (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017b).

Em função de sua especificidade para vírus que utilizam o CCR5 como correceptor, a administração do maraviroc requer a realização prévia de um ensaio de tropismo, determinando assim a cepa circulante no paciente (MACARTHUR; NOVAK, 2008).

1.4.3 Inibidores de retrotranscrição

Esta classe se divide em Inibidores de Transcriptase Reversa Nucleosídicos (ITRNs) e Inibidores de Transcriptase Reversa Não Nucleosídicos (ITRNNs). O ITRN zidovudina (AZT) foi o primeiro medicamento liberado para a terapia anti-HIV, em 1987, baseada apenas em estudo clínico de fase II (ERICE et al., 1993). Até 1991, o AZT foi o único ARV disponível para o tratamento da infecção pelo HIV (FISCHL et al., 1995).

Os ITRNs são análogos nucleosídicos que não possuem o motivo 3'OH no anel de ribose, o que os distingue dos nucleotídeos fisiológicos. Uma vez incorporados à fita de DNA nascente, os ITRNs atuam como terminadores de cadeia, interrompendo o processo de transcrição reversa e, conseqüentemente, bloqueando a replicação viral (GÖTTE; WAINBERG, 2000; MICHAUD et al., 2012). Tais medicamentos são

administrados em uma forma inativa não fosforilada e, uma vez na célula, são convertidos em metabólitos ativos a partir de três etapas de fosforilação, promovidas por enzimas da família das timidina quinases (OWEN et al., 2006). Uma exceção a esse processo é o tenofovir (TDF), que necessita de apenas duas fosforilações para se tornar ativo, sendo assim classificado como inibidor de transcriptase reversa nucleotídico (ROBBINS et al., 1995). Os ITRNs aprovados pelo FDA são: AZT, lamivudina (3TC), entricitabina (FTC), abacavir (ABC) e TDF (FDA, 2018).

Os ITRNNs, por sua vez, não necessitam de fosforilação para se tornarem ativos e, ao contrário dos ITRNs, não integram a fita de DNA em formação. A atividade antirretroviral mediada por este grupo de medicamentos anti-HIV ocorre através de sua ligação a um sítio não catalítico da TR, com consequente impedimento alostérico, que bloqueia mudanças estruturais na TR do HIV (GÖTTE; WAINBERG, 2000). Os ITRNNs aprovados pelo FDA são: efavirenz (EFV), nevirapina (NVP), etravirina (ETR) e rilpivirina (FDA, 2018).

1.4.4 Inibidores de integrase

Os inibidores de integrase atuam na integração do DNA viral ao genoma da célula hospedeira, inativando o processo de transferência de fita. Os ARVs desta classe possuem em sua estrutura um motivo quelante de metais, interagindo então com metais divalentes presentes no sítio ativo da integrase, bloqueando sua ação. Os primeiros inibidores de integrase aprovados pelo FDA foram o raltegravir (RAL) e o elvitegravir (EVG). O inibidor de integrase de segunda geração dolutegravir (DTG) foi aprovado em 2013 (FDA, 2018).

DTG apresenta uma maior barreira genética quando comparado a RAL e EVG, indicando que é necessário um maior número de mutações virais para gerar o fenótipo de resistência ao DTG. A administração em dose única diária constitui uma vantagem adicional deste medicamento, não havendo qualquer tipo de restrição alimentar para sua ingestão (FERNANDEZ-MONTERO et al., 2014). Esse ARV é um dos medicamentos recomendados para composição da primeira linha de TARV, conforme descrito posteriormente.

1.4.5 Inibidores de protease

Os inibidores de protease agem na protease viral, inibindo a maturação de novas partículas virais e, conseqüentemente, impedindo o início de um novo ciclo de infecção. A maioria dos inibidores de protease são miméticos dos peptídeos das poliproteínas gag e gag-pol e são desenvolvidos com base na estrutura cristalizada da protease, tendo como alvo seu sítio ativo (RIDKY; LEIS, 1995).

Os regimes que se utilizam de inibidores de protease podem ter uma amplificação (do inglês, *boost*), sendo combinados com ritonavir (RTV) em baixa dose. O RTV é pouco eficiente e seu uso no *boost* tem como objetivo diminuir o metabolismo dos demais ARVs, já que é capaz de inibir as enzimas metabolizadoras CYPs. Os inibidores de protease aprovados pelo FDA são: tipranavir (TPV), saquinavir (SQV), lopinavir (LPV), RTV, fosamprenavir (FPV), darunavir (DRV) e atazanavir (ATZ) (CLOTET et al., 2007; HICKS et al., 2006; MEYER, DE et al., 2005).

1.4.6 Esquemas terapêuticos

A combinação de ARVs de diferentes classes em um mesmo esquema de tratamento é denominada terapia antirretroviral combinada (cART). A primeira linha de tratamento recomendada pela OMS consiste na combinação de um ITRNs, um inibidor de transcriptase reversa nucleotídico e um ITRNN. Os ARVs sugeridos são 3TC ou FTC, TDF e EFV em doses padrão (600mg/dia). Como opções alternativas a esse esquema, tem-se a substituição do EFV por: DTG, NVP ou o próprio EFV na concentração reduzida de 400mg (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016).

Até recentemente no Brasil, o esquema inicial preferencial consistia na combinação de medicamentos das mesmas classes indicadas pela OMS, sendo sugeridos os ARVs 3TC, TDF e EFV. Entretanto, a partir de 2017, o Ministério da Saúde recomendou a troca do ITRNN EFV pelo inibidor de integrase DTG. Todavia, esse ARV não é indicado para indivíduos em uso dos antiepilépticos fenitoína e fenobarbital, do anticonvulsivante oxycarbamazepina e do antiarrítmico dofetilida, além de outras condições citadas no tópico seguinte, nas quais EFV se mantém o

ARV preferencial (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017; (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018a)).

Caso não seja atingido um nível de carga viral indetectável após 6 meses de administração da primeira linha, recomenda-se a troca do esquema de tratamento, que consiste na substituição de EFV, DTG ou NVP por inibidores de protease (WHO, 2015; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

1.5 O INIBIDOR DE TRANSCRIPTASE REVERSA NÃO NUCLEOSÍDICO (ITRNN) EFAVIRENZ

A comercialização do EFV se iniciou em 1998, sob o nome de “Sustiva” (FDA, 2018). Este ARV apresenta posologia de um comprimido ao dia, o que facilita a adesão à terapia (NACHEGA et al., 2014; RAMJAN et al., 2014). Por muitos anos, foi considerado um dos principais ARVs para a primeira linha de tratamento, compondo o primeiro comprimido único contendo três medicamentos administrada uma única vez ao dia, o Atripla®. Contudo, novos ARVs com eficácia similar para reduzir a carga viral e restaurar o sistema imune, mas com melhor tolerabilidade, têm sido considerados como opções ao uso do EFV. Como consequência disso, alguns *guidelines* do cART, como os do Brasil e da Espanha, não incluem mais o EFV na primeira linha de tratamento (APOSTOLOVA, et al., 2017).

Entretanto, EFV continua tendo uma ampla utilização clínica. No Brasil, indivíduos já em uso de 3TC, TDF e EFV como primeira linha de cART devem manter esse esquema. EFV também é indicado para HIV-positivos coinfectados com tuberculose sem critério de gravidade. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017b). O tratamento de tuberculose é feito através do uso de rifampicina e este medicamento é um potente indutor da expressão de genes envolvidos no metabolismo e transporte dos ARVs, sendo capaz então de alterar a concentração plasmática dos mesmos (NIEMI et al., 2003). Porém, quando administrada concomitantemente com EFV, a rifampicina não afeta a concentração plasmática desse ARV a ponto de serem obtidas concentrações subótimas para inibição da replicação viral (ATWINE; BONNET; TABURET, 2018; PEDRAL-SAMPAIO et al., 2004).

Esquemas terapêuticos contendo EFV, quando comparados aos contendo DTG, foram associados a uma menor proporção de indivíduos atingindo a supressão

viral após 144 semanas de TARV, a uma maior taxa de descontinuação devido a efeitos adversos e a um desenvolvimento maior de mutações de resistência (RUTHERFORD; HORVATH, 2016). Contudo, EFV apresenta vantagens significativas que justificam que ainda seja amplamente utilizado na clínica.

Existe uma ampla experiência clínica sobre sua utilização, o que facilita a administração dos efeitos adversos que possam aparecer. EFV possui uma longa meia vida, de 52 a 72 horas após dose única, o que facilita a manutenção da supressão da replicação viral mesmo quando ocorre irregularidade no horário de tomada do medicamento (FIOCRUZ, [s.d.]). Mais ainda, diversos medicamentos genéricos ao EFV foram desenvolvidos, o que reduz o custo do cART, fator importante quando diz respeito à países em desenvolvimento, onde a maioria da população HIV-positivos está localizada. Com isso, pode-se dizer que o EFV ainda possui um papel importante no TARV (APOSTOLOVA et al., 2017; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017b).

1.6 EFEITOS ADVERSOS AO EFAVIRENZ

Efeitos adversos ao EFV representam cerca de 50% dos casos de descontinuação da primeira linha de cART (LEUTSCHER et al., 2013) e podem ser segregados em efeitos de curto prazo e em efeitos de longo prazo. Os efeitos de curto prazo ocorrem nos primeiros dias ou semanas de cART e normalmente são facilmente controláveis. Caracterizam-se por reações cutâneas, níveis plasmáticos elevados de transaminases hepáticas e sintomas relacionados ao Sistema Nervoso Central (SNC). Os efeitos de longo prazo são menos compreendidos e mais difíceis de prever e controlar. Tais sintomas podem potencializar ou acelerar manifestações de doenças crônicas, produzir distúrbios neuropsiquiátricos sustentados, elevar o risco de suicídio e depressão e levar a um declínio neurocognitivo (APOSTOLOVA, et al., 2015, 2017; GAZZARD et al., 2011; RIDDLER et al., 2008; SCOURFIELD et al., 2012).

Os efeitos adversos não relacionados ao SNC são os menos frequentes. Casos de diminuição dos níveis plasmáticos de vitamina D e da densidade óssea são descritos (DAVE et al., 2015). Casos de hepatotoxicidade ocorrem em mais de 8% dos indivíduos expostos ao EFV (NEUKAM et al., 2011; RIVERO; MIRA; PINEDA, 2007). Também são descritos distúrbios metabólicos, como ginecomastia e hiperglicemia,

alterações no padrão da circulação de lipídeos e lipoatrofia (HAUBRICH et al., 2009; MANFREDI; CALZA; CHIODO, 2005; SHIKUMA et al., 2007).

Os sintomas neuropsiquiátricos são os efeitos adversos mais frequentes ao EFV, representando aproximadamente 60% do casos de trocas de esquemas contendo esse ARV (LEUTSCHER et al., 2013). Diversos sintomas são reportados, como: tonteira, sensação de ressaca, dificuldade de concentração, dor de cabeça, vertigem, euforia, distúrbios no sono (sonolência, insônia, sonhos vívidos e pesadelos) e irritabilidade (ABERS; SHANDERA; KASS, 2014; CAVALCANTE et al., 2010; FUMAZ et al., 2005). Menos frequentemente, são relatados efeitos adversos mais severos, como: depressão severa, delírio, paranoia, despersonalização, alucinações, ansiedade e comportamento agressivo (SCOURFIELD et al., 2012).

Na literatura há estudos que demonstram que a administração de EFV é capaz de gerar alterações intracelulares. Uma delas é a diminuição da atividade mitocondrial, resultando em um acúmulo de lipídeos no citoplasma e aumentando a concentração de espécies reativas de oxigênio em células hepáticas (BLAS-GARCÍA et al., 2010). O EFV também é capaz de aumentar o estresse de retículo nessas células (APOSTOLOVA, et al., 2010; APOSTOLOVA, et al., 2013). Tais processos explicariam a hepatotoxicidade que alguns indivíduos apresentam devido ao uso deste ARV.

Estresse de retículo e diminuição da atividade autofágica também são observados em neurônios, células endoteliais do cérebro e astrogliia, devido ao EFV. A autofagia é um mecanismo celular que remove proteínas e organelas disfuncionais. Logo, a diminuição da sua atividade poderia contribuir para a toxicidade do EFV, assim como afetar a integridade da barreira hematoencefálica (BERTRAND; TOBOREK, 2015; PURNELL; FOX, 2014; WEISS et al., 2016). Alterações na barreira hematoencefálica, além de relacionadas à própria infecção pelo HIV no cérebro (NAKAGAWA; CASTRO; TOBOREK, 2012), também já foram descritas para doenças neuropsiquiátricas como esclerose múltipla, esclerose lateral amiotrófica, doença de Parkinson e doença de Alzheimer (ERICKSON, M. A.; BANKS, 2013; KORTEKAAS et al., 2005; LAROCHELLE; ALVAREZ; PRAT, 2011; RODRIGUES et al., 2012).

O EFV é um dos ARVs que apresenta uma das maiores capacidades de penetração no SNC (TOZZI et al., 2009). Os sintomas neuropsiquiátricos ao EFV já foram correlacionados aos efeitos observados como consequência ao uso da droga

alucinógena LSD (do inglês, *lysergic acid diethylamine*). Ainda mais, EFV e LSD possuem a mesma base molecular, sendo ambos capazes de ativar o receptor de serotonina 5-HT_{2A} (GATCH et al., 2013). EFV também é capaz de interagir com os receptores 5-HT_{2C}, 5-HT_{3A}, 5-HT₆, assim como com o receptor de GABA_A (DALWADI et al., 2016). Esse último é capaz de mediar estados de ansiedade e sonolência, sintomas esses que são típicos efeitos adversos no SNC relacionados ao EFV (HUANG et al., 2017).

A concentração plasmática de EFV após a administração oral de uma dose diária de 600mg apresenta ampla variação interindividual (STÄHLE et al., 2004). Os efeitos adversos à esse ARV, por sua vez, estão correlacionados com níveis plasmáticos mais altos desse medicamento, de modo que os indivíduos que fazem uso de EFV e mantêm sua concentração plasmática superior a 4000 ng/mL apresentam efeitos adversos com maior frequência (concentrações referentes à 14 horas após a ingestão do medicamento) (MARZOLINI et al., 2001). Alterações na atividade das enzimas envolvidas no metabolismo do EFV poderiam essa explicar essa variação, conforme descrito adiante.

1.7 FARMACOCINÉTICA DO EFAVIRENZ

Os dois principais grupos de metabolizadores do EFV são enzimas da superfamília Citocromo P450, envolvidas no metabolismo de fase I, e enzima da família UGT (uridina 5'-difosfo-glicuronosiltransferase), relacionada ao metabolismo de fase II (MICHAUD et al., 2012). EFV é metabolizado em 8-hidroxi-efavirenz (metabólito primário principal) e 8,14-dihidroxi-efavirenz (metabólito secundário) majoritariamente por CYP2B6 e, em menor escala por CYP3A4, CYP3A5 e CYP2A6. Também pode ser metabolizado em 7-hidroxi-efavirenz, uma via minoritária no metabolismo de EFV que, *in vitro*, representa 23% do metabolismo total do ARV (OGBURN et al., 2010). Estes metabólitos são formados a partir de uma hidroxilação oxidativa, o que permite que os mesmos sejam posteriormente metabolizados pela enzima UGT2B7 (metabolismo de fase II) e então excretados pelo organismo (WARD et al., 2003) (Figura 4).

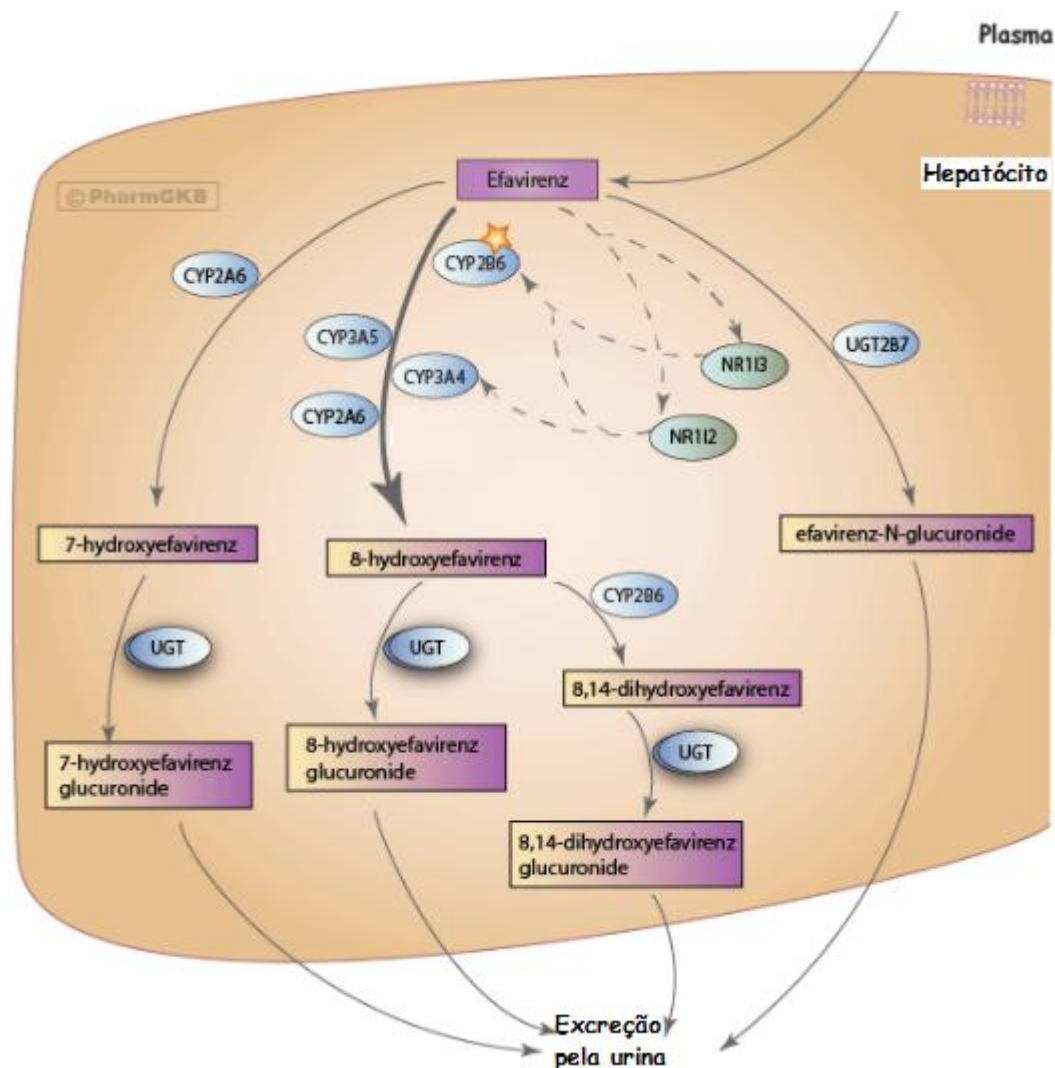


Figura 4 – Via metabólica do efavirenz no hepatócito. CYP2B6 é a principal responsável pela formação do metabólito 8-hidroxi-efavirenz, enquanto CYP3A4/5 e CYP2A6 atuam minoritariamente. CYP2A6 atua ainda na formação do metabólito 7-hidroxi-efavirenz. Os fatores de transcrição NR112 e NR113 são capazes de regular a expressão dos genes das CYPs. A glicoronidação é mediada pela enzima da família UGT, UGT2B7, formando metabólitos que serão excretados na urina. Adaptado de PharmGKB (MCDONAGH et al., 2015).

Muitas das enzimas que participam do metabolismo do EFV atuam também no metabolismo de outros ARVs, bem como de medicamentos das mais diversas classes (ODA et al., 2015; TORNIO; BACKMAN, 2018). Por essa razão, a escolha dos esquemas de cART deve ser considerada com cautela, de modo a minimizar interações medicamentosas que possam comprometer a eficácia e segurança de outros medicamentos em uso. As principais características das enzimas que atuam no metabolismo do EFV serão descritas nos itens que se seguem.

1.7.1 Citocromo P450

As isoenzimas P450 constituem uma superfamília de hemoproteínas. Em humanos, são conhecidos 57 genes, embora apenas em torno de 30 codifiquem uma proteína, e 58 pseudogenes, localizados no cromossomo 19 (GUENGERICH; WU; BARTLESON, 2005). As principais isoenzimas desta família envolvidas no metabolismo de fase I do EFV (CYP2B6, CYP3A4, CYP3A5 e CYP2A6) são expressas predominantemente no tecido hepático (GONZALEZ et al., 1992; JANMOHAMED et al., 2001).

1.7.1.1 CYP2B6: a principal enzima metabolizadora

Acredita-se que aproximadamente 8% dos medicamentos utilizados na clínica sejam metabolizados por CYP2B6 (MO et al., 2009). O crescente interesse em pesquisas relacionadas à CYP2B6 está relacionado a fatores como: o aumento cada vez maior na identificação de substratos desta enzima; variações étnicas e polimórficas que alteram os níveis de expressão gênica e a evidência de uma regulação cruzada com CYP3A4, UGT1A1 e diversos transportadores de medicamentos hepáticos (WANG, H.; TOMPKINS, 2008).

Diferenças na expressão de CYP2B6 no fígado podem ocorrer devido ao sexo do indivíduo. Mulheres possuem uma maior quantidade de RNAm, proteína e atividade enzimática desta isoforma (LAMBA, V. et al., 2003). Em homens, o aumento da idade foi correlacionado com um aumento significativo na quantidade de CYP2B6 hepático (YANG et al., 2010).

A CYP2B6 desempenha um importante papel no metabolismo de diversos medicamentos tais como o agente antineoplásico ciclofosfamida, o antagonista de estrogênio tamoxifeno (utilizado no tratamento de câncer de mama), o anticonvulsivo S-mephenitoina, o ansiolítico diazepam e o anestésico propofol (CHANG, et al., 1993; HEYN; WHITE; STEVENS, 1996; ONO et al., 1996; WANG; TOMPKINS, 2008; WHITE et al., 1995). Além disso, essa enzima metaboliza procarcinógenos, incluindo aflatoxina B1, 6-aminocrisene e 7,12-dimetilbenzantraceno (AOYAMA et al., 1990; MIMURA et al., 1993; SHOU et al., 1996). No que diz respeito à terapia anti-HIV, além do EFV, CYP2B6 atua no metabolismo de fase I da NVP (ERICKSON, et al., 1999;

WARD et al., 2003). A rifampicina, utilizada no tratamento de tuberculose, é uma indutora da atividade de CYP2B6 (LÓPEZ-CORTÉS et al., 2002).

1.7.1.2 CYP2A6

CYP2A6 é expresso predominantemente nas células hepáticas, representando de 1 a 10% do conteúdo de CYPs hepáticas. Possui expressão baixa em outros tipos celulares, como mucosa nasal e células epiteliais bronquiolares (CRAWFORD et al., 1998; KOSKELA et al., 1999; SU et al., 1996). Comparado com CYP3A4, poucos medicamentos utilizados na clínica são significativamente metabolizados por essa enzima. A nicotina, o anti varicoso cumarina, os anestésico halotano e metoxiflurano, o anticonvulsivante ácido valpróico, o dissulfiram (utilizado no tratamento de alcoolismo) e o antiepiléptico losigamone são alguns de seus substratos (RAUNIO et al., 2001).

1.7.1.3 CYP3A4 e CYP3A5

CYP3A4 é a principal isoenzima da família P450 envolvida no metabolismo de medicamentos. É a que está presente em maior quantidade no fígado, representando entre 30% e 50% de todo o conteúdo de isoenzimas P450 nesse órgão (GUENGERICH, 1990; KIVISTÖ et al., 1996; WAZIERS, et al., 1990). CYP3A4 contribui no metabolismo de mais de 50% dos medicamentos utilizados na clínica. Entre esses, além do EFV, se encontram outros ARVs como os inibidores de protease, maraviroc e NVP (MICHAUD et al., 2012). Existe uma grande variação interindividual na expressão de CYP3A4 e conseqüentemente, na sua atividade catalítica (PAINE et al., 1997; SHIMADA et al., 1994; WAZIERS, DE et al., 1990; WOLBOLD et al., 2003).

A CYP3A5 é a isoenzima predominante nos rins, e também se encontra no estômago, pulmões, próstata, glândulas adrenais e em menor quantidade no fígado e intestino delgado (ANTTILA et al., 1997; HUKKANEN et al., 2003; KOCH et al., 2002; KOLARS et al., 1994; LOWN et al., 1994; YAMAKOSHI et al., 1999). CYP3A5 apresenta, na sua sequência de aminoácidos, uma similaridade com CYP3A4 superior a 85% (ORTIZ DE MONTELLANO, 2005). As duas isoenzimas são homólogas no que se refere à especificidade de substratos. Logo, torna-se difícil

discernir qual a respectiva contribuição de cada uma no metabolismo de seus substratos (MICHAUD et al., 2012).

CYP3A4 e CYP3A5 estão envolvidos em diversas interações medicamentosas clinicamente relevantes, principalmente em indivíduos HIV-positivos, uma vez que esses são expostos a um maior número de medicamentos (INDIANA UNIVERSITY, 2016). A concomitante administração de indutores de CYP3A pode comprometer a eficácia da resposta virológica, aumentando o metabolismo e diminuindo a biodisponibilidade de ARVs que sejam substratos dessas enzimas. Isso ocorre quando é coadministrado maraviroc, substrato de CYP3A, com os indutores de CYP3A rifampicina ou EFV (ABEL et al., 2008).

1.7.2 UGTs

As enzimas UGT são divididas em duas famílias, UGT1 e UGT2, que incluem 19 enzimas com atividade conjugativa significativa em humanos, expressas principalmente no fígado (CONGIU et al., 2002; COURT, 2010). Elas desempenham papel central no metabolismo de fase II dos medicamentos, realizando a reação de glicuronidação. Essas enzimas transferem uma molécula de ácido glicorônico para uma molécula aceptora, etapa importante para a eliminação de diversos compostos endógenos e exógenos como os ARVs AZT, RAL, ABC, EFV e NVP (BARBIER et al., 2000; KASSAHUN et al., 2007; MUTLIB et al., 1999; WARD et al., 2003). A isoforma UGT2B7 é a única capaz de realizar o metabolismo de fase II de EFV (BAE et al., 2011; BÉLANGER et al., 2009).

1.7.3 PXR e CAR

O receptor de pregnano (PXR) e o receptor constitutivo de androstano (CAR) são membros da superfamília dos receptores nucleares órfãos. Esses fatores de transcrição, na presença de xenobióticos, atuam aumentando a expressão de enzimas de metabolismo de medicamentos, podendo assim promover interações medicamentosas (CHEN et al., 2012; WANG; LECLUYSE, 2003).

PXR e CAR, no seu estado inativo, se localizam no citoplasma da célula, ligados a complexos de histonas desacetilases (HDAC, do inglês *histone deacetylase*

complexes). Na presença do xenobiótico, esses fatores se dissociam das HDACs e translocam-se para o núcleo, onde formam heterodímeros com o receptor retinóide X (RXR, do inglês *retinoid X receptor*). Uma vez no núcleo celular, os heterodímeros PXR/RXR e CAR/RXR se ligam a elementos responsivos a receptores nucleares na região promotora dos genes de metabolismo (HANDSCHIN; MEYER, 2003).

Esses fatores de transcrição podem se ligar a sequências regulatórias comuns nos promotores de CYP3A e CYP2B (ZHANG et al., 2001; ZORDOKY; EL-KADI, 2009). EFV é capaz de aumentar seu próprio metabolismo através da indução da expressão dos genes de CYP2B6 e CYP3A4, pela ativação de NR1I2 e NR1I3 (FAUCETTE, et al., 2007; HARIPARSAD et al., 2004). A indução da expressão dos genes *CYP2B6* e *CYP3A4* via ativação de NR1I2 também pode ser mediada por outros medicamentos, como a rifampicina. (FAUCETTE, et al., 2006; SVÄRD et al., 2010).

1.8 FARMACOGENÉTICA DO EFAVIRENZ

Uns dos alvos mais comuns dos estudos de farmacogenética são os genes que codificam as proteínas envolvidas na absorção, metabolismo e excreção (ADME) do medicamento. Tais enzimas possuem um importante impacto no desenvolvimento de efeitos adversos aos medicamentos, uma vez que são capazes de alterar a biodisponibilidade dos seus alvos.

1.8.1 Farmacogenética dos genes de ADME

1.8.1.1 *CYP2B6*

CYP2B6 é o único gene identificado pertencente à subfamília CYP2B. Este gene foi mapeado no cromossomo 19 entre as regiões 19q12 e 19q13.2 e é composto por nove éxons (GUENGERICH; WU; BARTLESON, 2005; NELSON et al., 1996). Até a presente data, mais de 70 alelos já foram determinados no gene *CYP2B6* (PHARMVAR, 2018). Estudos funcionais têm revelado uma variedade de desfechos fenotípicos relacionados a estes polimorfismos, incluindo diminuição significativa da

atividade catalítica ou até mesmo perda total da expressão (WANG; TOMPKINS, 2008).

O polimorfismo +516G>T (rs3745274), localizado no éxon 4 de *CYP2B6*, é o mais citado na literatura, estando relacionado com um processamento errôneo do RNAm, com uma menor expressão do mesmo e, conseqüentemente, com uma menor formação de proteínas funcionais (HOFMANN et al., 2008). Este SNP já foi associado em diversos estudos a um maior risco de sintomas no SNC relacionados à ingestão de EFV (GATANAGA et al., 2007; HAAS et al., 2004; HASSE et al., 2005; LOWENHAUPT et al., 2007; ROTGER et al., 2005).

É descrito na literatura que indivíduos homocigotos para o haplótipo *CYP2B6**6, definido pelos SNPs +516G>T e +785A>G (rs2279343) possuem um aumento na concentração plasmática de EFV, devido a uma menor metabolização. Conseqüentemente, possuem um maior risco de desenvolver efeitos adversos a esse ARV (ROTGER et al., 2005; TSUCHIYA et al., 2004).

O SNP +983T>C (rs28399499) tem um efeito mais impactante do que o +516G>T no aumento na concentração plasmática de EFV (HAAS et al., 2004; RIBAUDO et al., 2010; WANG, et al., 2006; WYEN et al., 2008). Contudo, esse SNP é pouco frequente e aparenta estar presente apenas em populações africanas (dbSNP, 2018). Já o SNP +15582C>T (rs4803419), mais frequente em caucasianos, prediz um modesto aumento na concentração de EFV (HOLZINGER et al., 2012).

Diferentes combinações entre os alelos de +516G>T, +983T>C e +15582C>T definem o perfil de metabolismo de EFV pela enzima *CYP2B6*. Esses três SNPs explicam aproximadamente 35% da variabilidade interindividual da concentração plasmática de EFV. A partir desses marcadores, os indivíduos podem ser classificados em metabolizadores lentos, intermediários ou rápidos. Quanto menor a taxa de metabolização do medicamento, maior será sua concentração plasmática, o que favorece o surgimento de efeitos adversos (HOLZINGER et al., 2012).

O perfil de metabolizador lento está associado com a descontinuação do tratamento contendo EFV devido ao surgimento de efeitos adversos relacionados ao SNC (MOLLAN et al., 2017). A força dessa associação varia entre populações, demonstrando a influência da ancestralidade genética na farmacogenética do EFV (LEGER et al., 2016; RIBAUDO et al., 2010).

Em relação à população brasileira, existem poucos estudos no que diz respeito à farmacogenética do EFV, e estes não reproduzem as associações observadas em outras populações. Em um grupo de indivíduos HIV-positivos do sul do Brasil, não foram encontradas associações entre o +516G>T e efeitos adversos no SNC relacionados ao EFV (MÜLLER et al., 2017). Analisando o desfecho de falha terapêutica ao tratamento contendo EFV, Coelho e colaboradores, (2013) também não encontraram associação com o +516G>T. Por sua vez, Queiroz e colaboradores (2017) demonstraram associação entre esse SNP e uma redução na contagem de linfócitos T CD4+ em indivíduos HIV-positivos do estado do Pará em uso de EFV.

Um trabalho prévio do nosso grupo (ARRUDA et al., 2016) (Apêndice A) analisou a associação entre SNPs em genes de ADME e intolerância aos ITRNN (incluindo EFV). Assim como a maioria dos demais estudos realizados no Brasil, também não foi observada associação entre SNPs de *CYP2B6* e desfechos de intolerância a regimes contendo EFV.

1.8.1.2 *CYP2A6*

O gene *CYP2A6* possui 9 éxons e está localizado na região 19q12-13 (FERNANDEZ-SALGUERO et al., 1995; HOFFMAN et al., 1995). Diversas variantes neste gene já foram descritas, e algumas podem levar a alterações na atividade enzimática, conseqüentemente afetando o metabolismo dos substratos de *CYP2A6* (XU et al., 2002).

O SNP -48T>G (rs28399433), por exemplo, rompe um sítio TATAbox e está relacionado com uma menor expressão de *CYP2A6* (YOSHIDA et al., 2003). A presença desse SNP aumenta ainda mais a concentração plasmática de EFV em indivíduos com o perfil genético de metabolizadores lentos de *CYP2B6*, que já possuem níveis plasmáticos do ARV altos (HAAS et al., 2014). Em uma população do Gana, observou-se que a presença desse SNP em conjunto com +1093G>A (rs28399454) está correlacionada a uma maior concentração plasmática de EFV, independentemente de *CYP2B6* (KWARA; LARTEY; SAGOE; KENU et al., 2009; KWARA; LARTEY; SAGOE; RZEK et al., 2009).

1.8.1.3 *CYP3A4* e *CYP3A5*

Os genes *CYP3A4* e *CYP3A5* estão localizados no cromossomo 7 região q22.1 (INOUE et al., 1992). Diversas variantes no gene *CYP3A4* já foram identificadas, porém, os dados a respeito da associação entre esses polimorfismos genéticos e um impacto direto na resposta ao TARV ainda se mantém contraditórios (LEE, et al., 2003). O SNP +671-202C>T (rs4646437) possivelmente possui um impacto na farmacocinética do EFV (ARAB-ALAMEDDINE et al., 2009; HAAS et al., 2004).

Polimorfismos no gene *CYP3A5* regulam diretamente a variação na expressão e atividade desta isoenzima. A frequência destes polimorfismos varia conforme a característica étnica de cada população (KUEHL et al., 2001; LEE, et al., 2003; XIE et al., 2004). Existem poucos estudos relacionando SNPs nesse gene a desfechos ao TARV contendo EFV. Haas e colaboradores (2004) demonstraram que o +6986A>G (rs776746) pode estar fracamente associado a alterações na concentração plasmática de EFV.

1.8.1.4 *UGT2B7*

O gene *UGT2B7* está localizado na região 4q13.2 (RADOMINSKA-PANDYA; LITTLE; CZERNIK, 2001). Esse gene apresenta uma grande diversidade de processamento, possuindo 22 variantes do transcrito e 7 tipos da proteína UGT2B7 (MÉNARD et al., 2011). O gene *UGT2B7* apresenta também diversos polimorfismos associados à variabilidade na cinética de metabolismo de diferentes ARVs (BÉLANGER et al., 2009).

Kwara e colaboradores (2009) demonstraram que o alelo *UGT2B7*1α* explica 10% da variação total na concentração plasmática de EFV em pacientes HIV-positivos de Gana, atuando como preditor da farmacocinética deste ARV, juntamente com *CYP2B6* e *CYP2A6* (KWARA; LARTEY; SAGOE; RZEK et al., 2009). Além disso, polimorfismos no gene *UGT2B7* também já foram correlacionados à variações na concentração plasmática de EFV de forma independente de *CYP2B6* (KWARA; LARTEY; SAGOE; KENU et al., 2009). O SNP +735A>G (rs28365062) já foi associado a uma maior concentração plasmática de EFV, embora a validade deste achado seja ainda incerta (HAAS et al., 2014).

1.8.1.5 *NR1I2* (PXR) e *NR1I3* (CAR)

O PXR é codificado pelo gene *NR1I2*, que possui 10 éxons e está localizado na região 3q13-21. Na literatura, diversos SNPs em *NR1I2* já foram associados a alterações na atividade de PXR. O SNP *NR1I2* +63396C>T (rs2472677) está localizado em um suposto sítio de ligação a fator de transcrição. Este polimorfismo já foi associado a um aumento da expressão de *NR1I2*, com consequente aumento na expressão de *CYP3A4* (BERTILSSON et al., 1998; HEALAN-GREENBERG et al., 2007; LEHMANN et al., 1998). Entretanto, não existem ainda estudos demonstrando associação entre SNPs em *NR1I2* e variações na concentração plasmática de EFV.

A proteína CAR é codificada pelo gene *NR1I3*, que possui 9 éxons e está localizado na região 1q21-23. Diversas variantes únicas de *NR1I3* já foram descritas na literatura. Elas ocorrem devido a diferentes combinações de eventos de splicing e algumas possuem mutações *nonsense*, gerando proteínas não funcionais (AUERBACH et al., 2003; LAMBA, J. K. et al., 2004; PASCUSI et al., 2003).

Variações no gene *NR1I3* podem influenciar a concentração plasmática de EFV de maneira indireta, via indução de *CYP2B6* (SWART et al., 2012). Em indivíduos caucasianos HIV-positivos, o alelo T do SNP +453C>T (rs2307424) foi associado a uma menor concentração plasmática de EFV, enquanto o alelo C aumentou o risco de descontinuação mais rápida de regimes cART contendo EFV (WYEN et al., 2011). Um segundo SNP neste gene, +239-1089T>C (rs3003596), foi também associado a concentrações plasmáticas reduzidas de EFV em uma população da África do Sul (SWART et al., 2012).

1.8.1.6 *ABCB1*

O gene *ABCB1* codifica a glicoproteína-P (P-gp), um transportador de efluxo de medicamentos capaz de influenciar a disponibilidade intracelular de diversos ARVs, principalmente os inibidores de protease, bem como sua distribuição pelos tecidos (RODRÍGUEZ-NÓVOA et al., 2006). Embora os dados da literatura não demonstrem claramente que o EFV esteja entre os alvos deste transportador, já foram descritas na literatura associações entre polimorfismos no gene *ABCB1* e desfechos relacionados ao EFV.

O alelo T do SNP +3435C>T (rs1045642) foi associado à menores níveis plasmáticos de EFV e uma melhor resposta imunológica em uma população de caucasianos (FELLAY et al., 2002). Contudo, essa associação não foi observada em uma população de HIV-positivos do Japão (TSUCHIYA et al., 2004). Já Haas e colaboradores (2005) encontraram uma associação do alelo +3435T com uma menor probabilidade de falha virológica e a uma diminuição no surgimento de resistência viral ao EFV. Em contrapartida, esse estudo não encontrou correlação entre a variação +3435C>T e a concentração plasmática de EFV.

Mukonzo e colaboradores (2013) reportaram que o SNP *193A>G (rs3842) é capaz de influenciar a biodisponibilidade de EFV em uma população sadia de Uganda, após administração de uma dose única deste ARV. A associação entre esse SNP e níveis plasmáticos de EFV já havia sido observada em indivíduos HIV-positivos da Bélgica, da África do Sul e da Etiópia e Tanzânia (ELENS et al., 2010; NGAIMISI et al., 2013; SWART et al., 2012).

1.9 DESENVOLVIMENTO DE EFEITOS ADVERSOS AO EFV NO SNC: FATORES GENÉTICOS ADICIONAIS

Diversos estudos na literatura caracterizam SNPs no gene *CYP2B6*, especialmente o +516G>T, como os mais impactantes no que diz respeito ao desfecho de efeitos adversos ao EFV no SNC (GATANAGA et al., 2007; HAAS et al., 2004; HASSE et al., 2005; LOWENHAUPT et al., 2007; ROTGER et al., 2005). No contexto da população brasileira, apenas um estudo objetivou correlacionar marcadores genéticos humanos ao desenvolvimento de efeitos adversos ao EFV no SNC, restringindo-se apenas ao +516G>T (MÜLLER et al., 2017). Marcadores nos demais genes que participam da via metabólica de EFV já foram associados a concentrações plasmáticas de EFV mais elevadas, até mesmo de maneira independente ao genótipo de *CYP2B6* (FELLAY et al., 2002; HAAS et al., 2004; KWARA; LARTEY; SAGOE; KENU et al., 2009; KWARA; LARTEY; SAGOE; RZEK et al., 2009; MUKONZO et al., 2013; SWART et al., 2012; WYEN et al., 2011). A presença de tais SNPs, além dos em *CYP2B6*, poderia também favorecer o surgimento de efeito adversos ao EFV.

Os fatores farmacocinéticos e/ou farmacogenéticos associados a efeitos adversos ao EFV no SNC variam de acordo com a população estudada. (ARAB-ALAMEDDINE et al., 2009; LEGER et al., 2016). Com isso, a realização de uma abordagem integrada, visando analisar SNPs que representem a via metabólica de EFV como um todo, são de suma importância. Dessa maneira, pode-se caracterizar, em uma determinada população, quais os SNPs que são de fato relevantes para o surgimento de efeitos adversos ao EFV no SNC.

A análise de marcadores em genes não relacionados ao processo de ADME também deve ser considerada. Genes que codificam os alvos de EFV no SNC são candidatos interessantes para estudos de farmacogenética. Da mesma forma, genes relacionados com a susceptibilidade a diferentes transtornos psiquiátricos também podem ser informativos no que diz respeito ao desfecho em questão. De fato, o histórico prévio de transtornos psiquiátricos aparenta estar associado a uma maior incidência de efeitos adversos ao EFV no SNC (MOLLAN et al., 2014).

As doenças psiquiátricas, em sua maioria, apresentam caráter multifatorial e componente genético complexo. Estudos *GWAS* (do inglês, *Genome-Wide Association Study*) evidenciam que diversos genes estão envolvidos na etiologia da Doença de Alzheimer, na disordem do espectro do autismo, na doença bipolar e na esquizofrenia (SULLIVAN; DALY; O'DONOVAN, 2014). Estudos em famílias sugerem ainda que muitos transtornos psiquiátricos compartilhem uma mesma base genética, conforme observado para doença bipolar e esquizofrenia, doença bipolar e depressão grave e disordem do espectro do autismo e transtorno de déficit de atenção (LEE et al., 2013). Alguns dos marcadores previamente associados a desordens neuropsiquiátricas estão listados no apêndice B.

As variações em genes candidatos nos demais genes de ADME e em genes relacionados a doenças psiquiátricas poderiam ser utilizadas como preditores do desfecho de efeitos adversos no SNC devido ao EFV. Esses marcadores poderiam ser analisados em conjunto ou de forma independente aos SNPs já amplamente descritos no gene *CYP2B6*, de modo a explicar as variações de resposta ao EFV em condições normais de atividade de *CYP2B6*.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Determinar a associação entre polimorfismos genéticos humanos e o surgimento de efeitos adversos ao antirretroviral efavirenz em uma população de indivíduos HIV-positivos do Rio de Janeiro.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar a frequência de 67 SNPs em genes envolvidos no metabolismo/transporte de EFV em indivíduos HIV-positivos;
- Caracterizar a associação entre SNPs e haplótipos nestes genes e o desfecho de efeitos adversos ao EFV na população em questão;
- Caracterizar a frequência de 34 SNPs em genes relacionados a doenças psiquiátricas na população de estudo;
- Caracterizar a associação dos SNPs nestes genes e haplótipos com o desfecho de efeitos adversos no SNC relacionados ao EFV.

3. ARTIGO “DRUG METABOLISM AND TRANSPORT GENE POLYMORPHISMS AND EFAVIRENZ ADVERSE EFFECTS IN BRAZILIAN HIV-POSITIVE INDIVIDUALS”

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (ANEXO A). Todos os indivíduos incluídos no estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO B).

3.1 CONTRIBUIÇÃO NO TRABALHO

Neste artigo, participei da leitura de prontuários e seleção dos participantes, fui responsável pela seleção dos polimorfismos analisados, realizei as genotipagens por TaqMan® Open Array® (ThermoFisher Scientific, Massachusetts, USA) e SNaPshot® (ThermoFisher Scientific, Massachusetts, USA), acompanhei as genotipagens com a plataforma Sequenom MassArray® iPLEX (Agena Bioscience™, California, USA), realizei as análises estatísticas e fui responsável pela redação do artigo científico.

Drug metabolism and transport gene polymorphisms and efavirenz adverse effects in Brazilian HIV-positive individuals

Tailah Bernardo de Almeida¹, Marcelo Costa Velho Mendes de Azevedo², Jorge Francisco da Cunha Pinto², Fernando Rafael de Almeida Ferry², Guilherme Almeida Rosa da Silva², Izana Junqueira de Castro², Paxton Baker³, Amilcar Tanuri¹, David W. Haas^{3,4} and Cynthia C. Cardoso^{1*}

¹Laboratório de Virologia Molecular, Departamento de Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, Brazil; ²Hospital Universitário Gaffrêe e Guinle, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, Brazil; ³Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN, USA; ⁴Meharry Medical College, Nashville, TN, USA

*Corresponding author. Tel: +55-21-2564-3353; E-mail: cynthiac@biologia.ufrj.br

Received 16 January 2018; returned 21 March 2018; revised 13 April 2018; accepted 22 April 2018

Objectives: There are limited data regarding efavirenz pharmacogenetics in admixed populations. The Brazilian population is highly admixed. In a Brazilian cohort, we sought to characterize associations between efavirenz adverse effects (all-cause and CNS) and polymorphisms in seven genes known or suspected to affect efavirenz metabolism and transport.

Methods: We studied 225 HIV-positive individuals who had been prescribed efavirenz-containing regimens at a hospital in Rio de Janeiro, Brazil. Eighty-nine cases had efavirenz adverse effects, including 43 with CNS adverse effects, while 136 controls had no adverse effect of any antiretroviral after treatment for at least 6 months. A total of 67 candidate polymorphisms in *ABCB1*, *CYP2A6*, *CYP2B6*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *NR1I2* and *NR1I3* genes were selected for association analysis. Admixture was assessed using 28 ancestry-informative polymorphisms previously validated for the Brazilian population. Associations were evaluated with logistic regression models adjusted for sex and genetic ancestry.

Results: There was extensive African, European and Native American admixture in the cohort. Increased all-cause adverse effects were associated with the *CYP2B6* genotype combination 15582CC-516TT-983TT (OR = 7.26, *P* = 0.003) and with the *CYP2B6* slow metabolizer group 516TT or 516GT-983CT (OR = 3.10, *P* = 0.04). CNS adverse effects were nominally associated with *CYP3A4* rs4646437 (OR = 4.63, *P* = 0.014), but not after adjusting for multiple comparisons.

Conclusions: In a highly admixed Brazilian cohort, the *CYP2B6* slow metabolizer genotype was associated with an increased risk of efavirenz adverse effects.

Introduction

Worldwide, ~37 million people are living with HIV-1, of whom nearly 50% are receiving ART.¹ The most recent WHO guidelines recommend efavirenz in combination with tenofovir and lamivudine as first-line ART.² Intolerance and adverse effects are primary reasons for first regimen discontinuation. Nearly one-half of patients prescribed efavirenz experience adverse effects, particularly CNS disturbances (e.g. insomnia, dizziness, depression, psychosis and suicidal ideation), which has been related to higher plasma efavirenz concentrations.^{3–6} In a Brazilian cohort, efavirenz CNS adverse effects were the third most frequent reason for treatment discontinuation.⁴

Cytochrome P450 (CYP) B6 is primarily responsible for efavirenz metabolism, with accessory pathways involving CYP2A6 and possibly CYP3A4/5.^{7,8} The CYP genes are transcriptionally regulated

by nuclear receptor genes *PXR*, *CAR* and others.⁹ Efavirenz is also directly glucuronidated by uridine 5'-diphospho-glucuronosyl-transferase (UGT) 2B7.^{10,11} SNPs in genes that encode these enzymes, especially *CYP2B6*, predict higher plasma efavirenz concentrations.^{12–15}

In *CYP2B6*, 516G→T (rs3745274) has been most extensively studied for associations with increased plasma efavirenz exposure.^{12,16–19} In addition, *CYP2B6* 983T→C (rs28399499) and 15582C→T (rs4803419) have been associated with increased plasma efavirenz exposure.^{20–22} Associations with plasma efavirenz concentrations have also been reported in different populations with SNPs in *ABCB1*, which encodes the efflux transporter P-glycoprotein.^{23–27} The *CYP2B6* SNPs that predict increased plasma efavirenz concentrations have also been associated with efavirenz CNS adverse effects.^{12,17,28}

© The Author(s) 2018. Published by Oxford University Press on behalf of the British Society for Antimicrobial Chemotherapy. All rights reserved. For permissions, please email: journals.permissions@oup.com.

1 of 8

Polymorphism frequencies and effects on gene expression vary among populations depending on genomic structure. Consequently, associations in one population may not translate to others. In Brazil there is marked ancestry admixture, defined as what occurs when previously isolated populations interbreed. This raises the possibility that genetic associations reported in other less admixed populations may not translate to Brazil.²⁹ In addition, there are limited studies of efavirenz pharmacogenetics in Brazilian populations. A previous study from our group did not find associations between SNPs in absorption, distribution, metabolism and excretion (ADME) genes and adverse effects of ART regimens containing either efavirenz or nevirapine, but that study only considered all-cause rather than specific adverse effects.³⁰

The aim of the present study was to characterize, among Brazilians, associations between SNPs in genes that are known or suspected to affect efavirenz disposition and risk of efavirenz all-cause and CNS adverse effects.

Methods

Ethics statement

This study was approved by the Research Ethics Committee of Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGG), number 94/2011. All procedures were performed in accordance with the guidelines of the Helsinki Declaration. Written informed consent was obtained from all subjects.

Study subjects

The present study was based on retrospective review of medical records and included a total of 225 HIV-1-positive individuals who received routine clinic follow-up at the Clinical Immunology Service of HUGG. Individuals at least 18 years of age were eligible regardless of sex. Additional eligibility criteria included complete documentation of ART regimens in the medical record, previous or current use of an efavirenz-containing regimen, documentation of reason for ART change and no treatment for TB or viral hepatitis. Individuals were excluded for adverse drug effects that occurred during pregnancy and for adverse effects that were attributed to antiretrovirals other than efavirenz. Analyses were performed with all eligible participants ($n = 225$). Those who developed any adverse effects due to efavirenz were defined as cases ($n = 89$) while those with no documented adverse effect of any antiretroviral for at least 6 months were defined as controls ($n = 136$). Additional analyses considered only the subset of cases with CNS adverse effects ($n = 43$). Adverse effects were based on self-report by individuals during clinical follow-up. Severity of adverse effects was not reliably documented in medical records. Among controls, the median time on an efavirenz-containing regimen was 63 months. Among cases, the median time on an efavirenz-containing regimen was 5.5 months. Data were obtained by retrospective review of medical records.

Considering a minimum allele frequency of 1% and a 50% incidence of adverse effects due to efavirenz, the minimum OR value to achieve 80% power in our sample size ($n = 225$) would be OR = 3. For analysis including only CNS adverse effects ($n = 179$), with a medium incidence of 30%, the minimum OR value to reach 80% power would be OR = 4.5.

Selection of polymorphisms for analysis

Candidate genes were *ABCB1*, *CYP2A6*, *CYP2B6*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *NR1I2* and *NR1I3*, in which 67 SNPs were selected for genotyping largely based on literature review (Table S1, available as [Supplementary data](#) at JAC Online).^{7–9,11,14} The SNPper tool was used to search for potentially informative SNPs in coding and non-coding regulatory regions. We also used the HapMap data bank to identify tagging SNPs and increase gene coverage.

For HapMap, we used a minor allele frequency (MAF) of 0.05 in CEU (Utah residents with Northern and Western European ancestry) or YRI (Yoruba in Ibadan, Nigeria) populations and an r^2 cut-off of 0.8 as parameters. To adjust for genetic ancestry, we used a panel of 28 ancestry-informative SNPs previously validated for the Brazilian population.³¹

DNA extraction and genotyping

Buffy coat samples were obtained from whole blood by centrifugation at 3000 g for 10 min and genomic DNA was extracted with a salting-out method. The *CYP2A6*, *CYP3A4*, *CYP3A5*, *NR1I2* and *NR1I3* SNPs and ancestry-informative markers were genotyped with TaqMan[®] Open Array[®] technology, using the QuantStudio[™] 12K Flex Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific, MA, USA), according to the manufacturer's instructions. The *CYP2B6* SNPs (except rs3745274, rs4803419, rs4803420 and rs7260525) were genotyped with SNaPshot[®] (Thermo Fisher Scientific), according to the manufacturer's instructions. Purified products underwent capillary electrophoresis on an ABI3130 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific) using the standard fragment analysis protocol. GeneMapper software (version 4.0 Thermo Fisher Scientific) was used for genotyping. *CYP2B6* rs3745274 and rs4803419 were genotyped with the TaqMan[®] Drug Metabolism SNP Genotyping Assay (Thermo Fisher Scientific), following the manufacturer's instructions. *CYP2B6* rs4803420 and rs7260525, and *ABCB1* markers were genotyped with a Sequenom MassARRAY[®] iPLEX platform (Agena Bioscience[™], CA, USA) at Vanderbilt Technologies for Advanced Genomics (VANTAGE) in Nashville, TN, USA. Data were analysed using Typer software (Agena Bioscience[™], CA, USA). Other genotyping was done at Laboratório de Virologia Molecular, Departamento de Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Estimates of genetic ancestry

Proportions of African, European and Native American genetic ancestries were estimated using Structure software, version 2.3.1.^{32–35} Proportions of each ancestry were estimated under an admixture model using data from European and African populations of the 1000 Genomes Project as a reference. Native American ancestry was estimated using an admixed Amazonian population from Santa Isabel do Rio Negro as a reference, all of whom reported recent indigenous ancestry.³⁶

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using R software (version 2.13.0) and the genetics, gap, SNPassoc, haplo.stats, LDheatmap, grid and coin packages.³⁷ Deviations from Hardy–Weinberg equilibrium (HWE) were assessed by the χ^2 test. Pairwise linkage disequilibrium (LD) patterns were determined using r^2 statistics (cut-off of $r^2 \geq 0.8$). Stepwise logistic regression analysis was performed to select covariates to include in the model as possible confounders, including age at the start of efavirenz-containing regimen, sex and genetic ancestry. The variables sex, African ancestry and Native American ancestry were considered to be informative and were included in the model. Sex proportions between cases and controls were compared using the χ^2 test. Age and genetic ancestry were compared using the Wilcoxon rank sum test.

Logistic regression models were performed to identify associations between SNPs and adverse effect outcomes. We primarily considered additive genetic models and secondarily considered dominant and recessive models. Bonferroni adjustment was applied to minimize type I error (P value cut-off for 46 SNPs = 1.1×10^{-3}). Haplotype analyses were performed for SNPs with nominal P value < 0.05 . Haplotype frequencies were estimated through maximum likelihood and compared between cases and controls using logistic regression models, as described for SNP analyses.

CYP2B6 genotype levels were defined as described elsewhere, with each increasing plasma efavirenz concentration stratum predicted by specific combinations of rs4803419 (15582C→T), rs3745274 (516G→T) and

Table 1. Characteristics of study participants

	All-cause cases (N = 89)	CNS cases (N = 43)	Controls (N = 136)	<i>p</i> ^c	<i>p</i> ^d
Sex ^a , <i>n</i> (frequency)					
male	43 (0.48)	26 (0.60)	84 (0.62)	0.064	0.978
female	46 (0.52)	17 (0.40)	52 (0.38)		
Age (years), mean ± SD ^b	41.1 ± 11.4	40.9 ± 11.9	40.5 ± 10.3	0.840	0.940
Genetic ancestry (%), mean ± SD ^b					
European	48 ± 28	41 ± 27	51 ± 29	0.540	0.071
African	40 ± 26	45 ± 28	36 ± 28	0.400	0.110
Native American	12 ± 14	14 ± 16	13 ± 14	0.640	0.950

^aComparisons were performed using the χ^2 test.

^bComparisons were performed using the Wilcoxon rank sum test.

^c*P* value based on all-cause cases versus controls.

^d*P* value based on CNS cases versus controls.

rs28399499 (983T→C) alleles.²⁰ We designated the 10 strata defined by these genotypes as level 1 to level 10, with level 1 being the composite genotype associated with the lowest concentrations and level 10 being associated with the highest concentrations. Levels 1, 2 and 3 are defined by 15582CC, CT and TT, respectively, together with 516GG and 983TT homozygosity. Levels 4 and 5 are defined by 516GT and 983CT heterozygosity, respectively, together with 15582CC homozygosity. Levels 6 and 7 are defined by 516GT and 983CT heterozygosity, respectively, together with 15582CT heterozygosity. Level 8 is defined by 516TT with 983TT, level 9 is defined by 516GT with 983CT and level 10 is defined by 516GG with 983CC, all together with 15582CC homozygosity.

We also assigned *CYP2B6* genotypes into three metabolizer groups: extensive, intermediate and slow. *CYP2B6* levels 1 and 2 were defined as extensive metabolizers, *CYP2B6* levels 3, 4, 5, 6 and 7 were defined as intermediate metabolizers and *CYP2B6* levels 8, 9 and 10 were defined as slow metabolizers. CIs were determined using the Wald modified method. Associations between *CYP2B6* genotype levels and CNS adverse effects were determined by logistic regression models considering *CYP2B6* genotype level both as an ordinal variable and comparing each level separately to the normal metabolizer genotype. *CYP2B6* genotype level was also included as a covariate in analyses for associations between other candidate SNPs and efavirenz adverse effects.

Results

Patient characteristics

The distribution of sex, age at the start of efavirenz-containing regimen and genetic ancestry in all-cause cases, CNS cases and controls is presented in Table 1. The cohort was highly admixed, with the average individual having ~50% European, ~45% African and ~13% Native American genetic ancestry. Covariates did not differ significantly between cases and controls, although there were somewhat fewer males among all-cause cases versus controls.

CNS adverse effects represented 48% of all adverse effect cases, with the most common symptoms being hallucinations (30%), dizziness (26%) and nightmares (16%) (Figure 1). Among the non-CNS cases (*n* = 46), 19% developed a rash, 11% were simply described as intolerant, 6% had malaise and 10% were unique cases of diabetes mellitus, dyslipidaemia, epigastralgia or hypertriglyceridaemia. Specific symptoms were not described for 24 individuals.

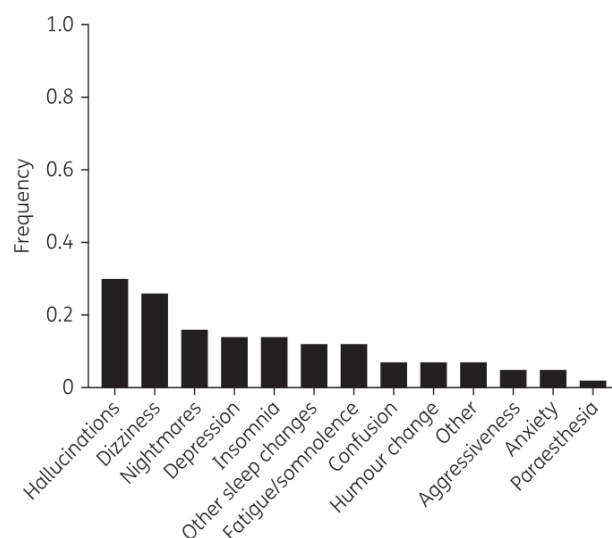


Figure 1. Distribution of reported efavirenz CNS adverse effects among 43 cases. Some cases had more than one type of efavirenz CNS adverse effect documented. Each type of CNS adverse effect was counted separately for such individuals.

Genotypes including HWE and LD

We attempted to genotype 67 SNPs in seven drug metabolism and transport genes. Of these, 5 that deviated from HWE were excluded from analysis, as were an additional 13 monomorphic loci. Of the remaining SNPs, three pairs were in LD at $r^2 \geq 0.8$ in *NR1I2* (rs1523127 and rs1523130) and *ABCB1* (rs4148740 and rs10225473; rs3789244 and rs1128503). Only the most frequent SNP of each pair was maintained. The remaining 46 SNPs were included in association analyses (Table S1).

Association between *CYP2B6* genotype levels and efavirenz adverse effects

We assessed whether *CYP2B6* genotype levels previously reported to predict plasma efavirenz concentrations were associated with efavirenz adverse effects.²⁰ We found no significant association

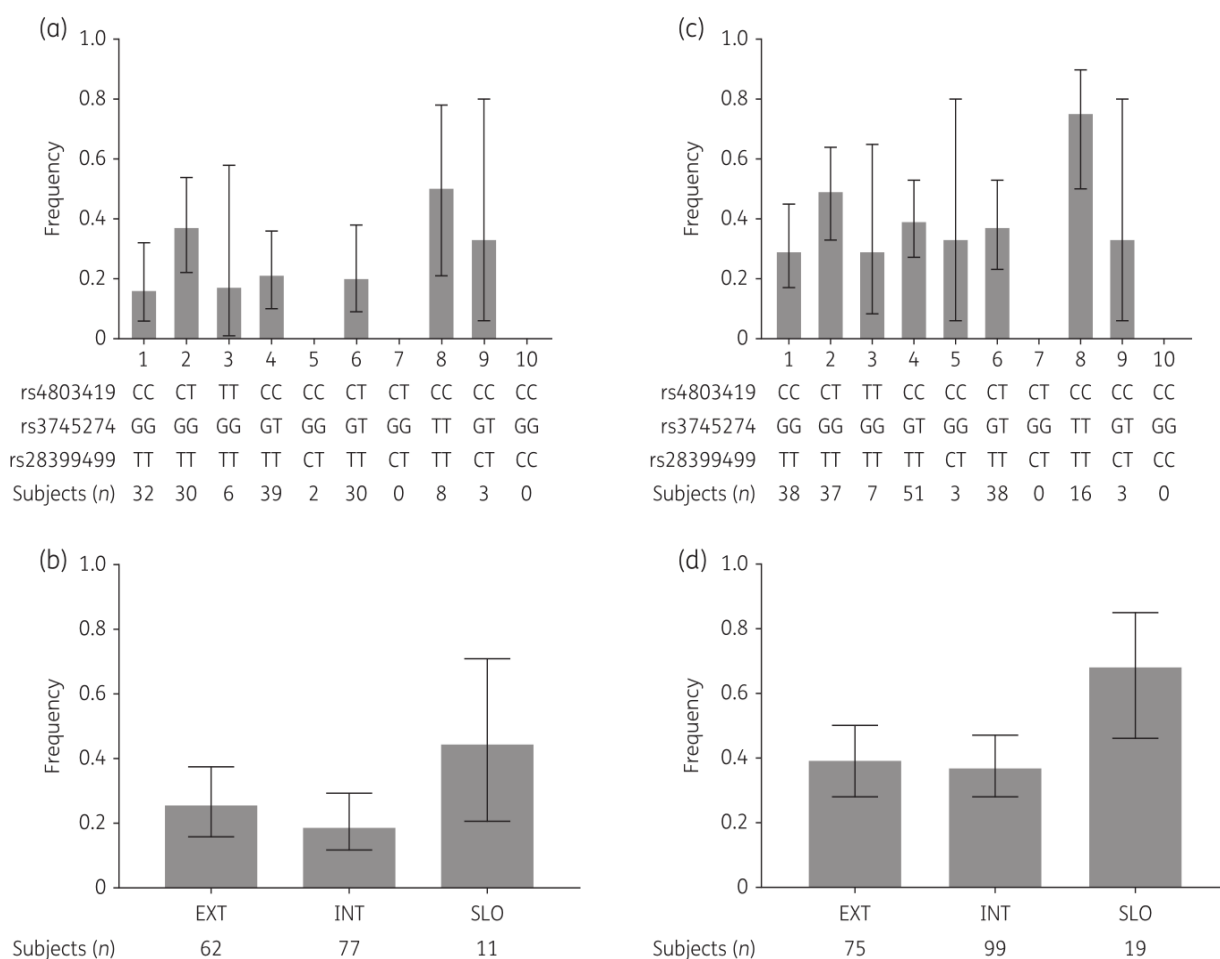


Figure 2. Distribution of *CYP2B6* level frequencies in cases. CIs were calculated using the modified Wald method. (a) Frequencies of *CYP2B6* metabolizer genotype levels in CNS cases based on 10 possible levels ($n = 43$). (b) Frequencies of *CYP2B6* metabolizer genotype levels in CNS cases collapsed into extensive, intermediate and slow metabolizer groups. (c) Frequencies of *CYP2B6* metabolizer genotype levels in all-cause cases based on 10 possible levels ($n = 89$). (d) Frequencies of *CYP2B6* metabolizer genotype levels in all-cause cases collapsed into extensive, intermediate and slow metabolizer groups. EXT, extensive metabolizer genotypes; INT, intermediate metabolizer genotypes; SLO, slow metabolizer genotypes. *CYP2B6* genotype levels were collapsed as follows: extensive (levels 1 and 2), intermediate (levels 3, 4, 5, 6 and 7) and slow (levels 8, 9 and 10).²⁰

between *CYP2B6* genotype level, considered as an ordinal variable, and CNS adverse effects by an unadjusted logistic regression model ($OR = 1.06, P = 0.50$) or with adjustment for sex, African ancestry and Native American ancestry ($OR = 1.04, P = 0.67$). Likewise, we found no significant association between *CYP2B6* genotype level and all-cause efavirenz adverse effects in an unadjusted model ($OR = 1.11, P = 0.14$) or after adjustment ($OR = 1.10, P = 0.13$). Proportions of adverse effect cases within each genotype level for CNS adverse effects and for all-cause adverse effects are presented in Figure 2(a and c).

In association analyses that compared each *CYP2B6* genotype level pairwise to genotype level 1, which predicts the lowest plasma efavirenz concentrations, there was an association between the diplotype rs4803419CC-rs3745274TT-rs28399499TT (level 8) and increased risk of CNS adverse effects in an unadjusted model ($OR = 8.67, P = 0.021$). This association was marginally significant after adjustment for sex, African ancestry and Native American ancestry ($OR = 5.46, P = 0.05$). We also found an

association between level 8 and all-cause efavirenz adverse effects in both an unadjusted model ($OR = 7.26, P = 0.003$) and after adjustment ($OR = 6.83, P = 0.005$).

We have also performed data analysis after collapsing *CYP2B6* genotype levels into extensive, intermediate and slow metabolizer groups. Individuals with slow metabolizer genotypes were more likely to be among CNS adverse effect cases, although this difference was not statistically significant (Figure 2b). Using extensive metabolizers as reference, we found no significant association between the metabolizer group and CNS adverse effects in an unadjusted model and after adjusting for sex, African ancestry and Native American ancestry. The intermediate group had an OR of 0.68 ($P = 0.34$) and the slow group an OR of 2.29 ($P = 0.23$) in the adjusted model. However, when all-cause adverse effect cases were considered, we found a significant association between slow metabolizer status and increased risk for adverse effects both in unadjusted ($OR = 3.44, P = 0.024$) and adjusted ($OR = 3.10, P = 0.04$) analyses (Figure 2d).

Table 2. Significant associations between SNPs and efavirenz CNS adverse effects

Genotype	Cases ^a	Controls ^a	Unadjusted model OR (95% CI)	Adjusted model OR (95% CI) ^c
SNP rs1882478 (<i>ABCB1</i>)				
CC	7 (0.17)	41 (0.31)	reference	reference
CT	22 (0.52)	72 (0.54)	1.79 (0.70–4.55)	1.50 (0.54–4.17)
TT	13 (0.31)	20 (0.15)	3.81 (1.32–11.02)	2.62 (0.80–8.65)
	42	133	$P = 0.040^b$	$P = 0.267^b$
CC-CT	29 (0.69)	113 (0.85)	reference	reference
TT	13 (0.31)	20 (0.15)	2.53 (1.13–5.69)	1.94 (0.79–4.80)
			$P = 0.027^d$	$P = 0.156^d$
SNP rs4646437 (<i>CYP3A4</i>)				
GG	6 (0.17)	47 (0.41)	reference	reference
GA	16 (0.46)	46 (0.40)	2.72 (0.98–7.58)	3.09 (0.96–9.95)
AA	13 (0.37)	22 (0.19)	4.63 (1.55–13.79)	4.95 (1.22–20.05)
	35	115	$P = 0.014^b$	$P = 0.059^b$
GG	6 (0.17)	47 (0.41)	reference	reference
GA-AA	29 (0.83)	68 (0.59)	3.34 (1.29–8.68)	3.36 (1.07–10.59)
			$P = 0.007^d$	$P = 0.029^d$
SNP rs2740574 (<i>CYP3A4</i>)				
TT	14 (0.39)	60 (0.51)	reference	reference
TC	12 (0.33)	42 (0.36)	1.22 (0.52–2.91)	1.03 (0.39–2.70)
CC	10 (0.28)	15 (0.13)	2.86 (1.06–7.68)	2.02 (0.60–6.79)
	36	117	$P = 0.116^b$	$P = 0.435^b$
TT-TC	26 (0.72)	102 (0.87)	reference	reference
CC	10 (0.28)	15 (0.13)	2.62 (1.05–6.49)	1.98 (0.71–5.52)
			$P = 0.043^d$	$P = 0.198^d$

^aResults are shown as *n* (frequency) for SNP genotypes.

^bOverall *P* value for additive model (2 degrees of freedom).

^cResults adjusted for sex, African ancestry and Native American ancestry.

^dOverall *P* value for dominant or recessive model (1 degree of freedom).

Adverse effects and polymorphisms beyond *CYP2B6*

In logistic regression models that considered only CNS adverse effect cases, two SNPs in *CYP3A4*, rs4646437 (OR = 4.63, $P = 0.014$, additive model) and rs2740574 (OR = 2.86, $P = 0.116$, additive model; OR = 2.62, $P = 0.043$, recessive model), were nominally associated with increased risk. There was also a nominal association with *ABCB1* rs1882478 (OR = 3.81, $P = 0.040$, TT genotype, additive model). After adjusting for sex, African ancestry and Native American ancestry, only *CYP3A4* rs4646437 remained associated with efavirenz CNS adverse effects (OR = 4.95, $P = 0.059$, additive model; OR = 3.36, $P = 0.029$, dominant model) (Table 2). This association was not statistically significant after adjusting for multiple comparisons.

Logistic regression analyses were also adjusted for *CYP2B6* genotype level to see whether this affected the apparent associations with *CYP3A4* rs4646437, *CYP3A4* rs2740574 and/or *ABCB1* rs1882478. Such adjustment did not substantially change ORs or *P* values of these associations (data not shown).

No associations were observed when all-cause efavirenz adverse effect cases were considered either before or after adjustment. The lowest *P* value was for *CYP2A6* rs28399433 after adjustment for sex, African ancestry and Native American ancestry ($P = 0.301$).

Haplotype analysis

We tested for associations between *CYP3A4* rs4646437-rs2740574 haplotypes noted above and efavirenz CNS adverse effects, as these two SNPs are in linkage equilibrium and were separately associated with the same risk effect. The haplotype containing both minor alleles, rs4646437A and rs2740574C, was associated with CNS adverse effects in both unadjusted (OR = 2.04, $P = 0.012$) and adjusted (OR = 2.08, $P = 0.045$) models. This haplotype did not have a stronger association with CNS adverse effects than each SNP considered separately (Table 3).

Discussion

Research into the pharmacogenetics of efavirenz among Brazilians is limited. The present study characterized, in a highly admixed Brazilian population, associations between efavirenz adverse effects (both all-cause and CNS adverse effects) and SNPs in genes that are known or suspected to affect efavirenz disposition. In unadjusted analyses, *CYP2B6* genotype rs4803419CC-rs3745274TT-rs28399499TT (genotype level 8) was significantly associated with efavirenz all-cause adverse effects. The *CYP2B6* slow metabolizer group (rs3745274TT or rs3745274GT-rs28399499CT) was also significantly associated with all-cause efavirenz adverse effects. In

Table 3. Association between CYP3A4 rs4646437 and rs2740574 and CNS adverse effects due to efavirenz

Haplotype rs4646437/rs2740574	Controls ^a	Cases ^a	Unadjusted model OR (95% CI)	Adjusted model OR (95% CI) ^b
G/T	0.6	0.39	reference	reference
A/C	0.29	0.43	2.04 (1.17–3.56; <i>P</i> = 0.012)	2.08 (1.02–4.26; <i>P</i> = 0.045)
A/T	0.1	0.16	2.70 (1.09–6.70; <i>P</i> = 0.033)	2.94 (1.06–8.15; <i>P</i> = 0.04)
G/C	0.01	0.02	1.99 (0.18–21.42; <i>P</i> = 0.571)	1.83 (0.15–22.02; <i>P</i> = 0.634)

^aHaplotype frequencies were estimated by maximum likelihood.

^bResults adjusted for sex, African ancestry and Native American ancestry.

addition, CYP3A4 rs4646437 was nominally associated with efavirenz CNS adverse effects, but not after adjusting for multiple comparisons.

The CYP2B6 516G→T (rs3745274) SNP is widely reported to be associated with efavirenz phenotypes, including higher efavirenz plasma concentrations and adverse effects.^{12,16–19,28} However, previous reports suggested that this effect may not occur in Brazilian populations.^{30,38,39} In a study of 50 individuals from the south of Brazil, Müller et al.³⁸ found no association between rs3745274 and CNS adverse effects due to efavirenz. A limitation of that study was the small sample size. In a previous study by our group, rs3745274 was not associated with intolerance to regimens containing either efavirenz or nevirapine in 395 individuals from Rio de Janeiro, Brazil.³⁰ Lack of focus on a specific intolerance could have limited our power to find an association. Similarly, Coelho et al.³⁹ found no association between rs3745274 and treatment regimen failure.

In contrast to previous reports from Brazil, our analyses considered CYP2B6 genotype levels based on combinations of rs3745274, rs28399499 and rs4803419. We found that CYP2B6 level 8 (rs4803419CC-rs3745274TT-rs28399499TT) was associated with increased risk of efavirenz all-cause adverse effects (*P* = 0.003). In addition, when considering classical metabolizer groups, we also found an association between the slow metabolizer group and efavirenz all-cause adverse effects (*P* = 0.04).

These associations were not significant when considering only CNS adverse effect cases, possibly due to a smaller sample size in that analysis. An additional limitation of our study is the use of a broad case definition, since different types of efavirenz adverse effects can be distinctively associated with the SNPs analysed. Therefore, the analysis of all cases as a single group may have reduced our power to detect associations that might be specific for each adverse effect. Associations between long-term efavirenz use and performance on formal neurocognitive testing have been reported.^{40,41} In the present retrospective study, we could not test for associations with neurocognitive performance because such data were not available.

Our findings agree with previous studies that showed associations between CYP2B6 variants and increased risk for specific efavirenz adverse effects or discontinuation of ART due to CNS symptoms.^{42,43} To our knowledge, the present study is the first to show associations between CYP2B6 genotype and efavirenz adverse effects in a Brazilian population. We cannot explain the stronger association between CYP2B6 level 8 (homozygosity for 516TT) as compared with level 9 (heterozygosity for 516GT and

983CT), although it might be due to the very few individuals in level 9.

The enzyme CYP3A4 is responsible for metabolizing the largest number of medications and plays a minor role in efavirenz metabolism.^{7,44} In our study, CYP3A4 rs4646437 was nominally associated with increased risk of CNS adverse effects, but not after adjusting for multiple comparisons. We also observed an association with CYP3A4 rs2740574 in an unadjusted model. The SNP CYP3A4 rs4646437 has been reported to be associated with decreased efavirenz clearance independent of CYP2B6 genotype, which could increase risk for efavirenz adverse effects.⁴⁵ In the published literature, we found no clear associations reported for rs2740574. An early study suggested that this SNP could be weakly associated with plasma efavirenz concentrations, but a subsequent study did not replicate this finding.^{12,18} Furthermore, Haas et al.¹² did not find an association between rs2740574 and efavirenz CNS adverse effects.

Although P-glycoprotein is not described as an efavirenz transporter, associations have been reported between ABCB1 SNPs and efavirenz-related outcomes.^{18,23,26,46} In the present study, among 21 candidate SNPs in ABCB1, we found an association with rs1882478 in an unadjusted model. To our knowledge, no prior studies have shown associations of ABCB1 rs1882478 with efavirenz phenotypes, although this SNP was reported to be associated with decreased hepatic ABCB1 expression among liver transplant donors in China.⁴⁷

The marked ancestry admixture in the Brazilian population may affect SNP frequencies and LD patterns. Consequently, findings from other well-defined ethnic groups may not reliably translate to Brazilians. It is thus important that pharmacogenetic associations reported in other populations be replicated in Brazil, as was done in the present study. Better understanding of pharmacogenetic mechanisms that underlie adverse effects of antiretroviral drugs may help to identify genetic predictors for these outcomes and ultimately lead to better-tolerated and more effective HIV therapies.

Acknowledgements

We are grateful to Cara Sutcliffe and the VANTAGE team at Vanderbilt University Medical Center. We also thank Diana Mariani and Lidia Boulosa for their technical assistance. We thank the Conselho Nacional de Desenvolvimento e Pesquisa (CNPq) and the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for a student fellowship. This work is part of T. B. d. A.'s requirements for obtaining a PhD degree from the Graduate Programme in Genetics at Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brazil.

Funding

This work was supported by The Brazilian Ministry of Health (TC 235/2012) (C. C. C.) and by National Institutes of Health grants AI077505, AI069439 and TR002243 (D. W. H.).

Transparency declarations

None to declare.

Supplementary data

Table S1 is available as [Supplementary data](#) at JAC Online.

References

- 1 Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). *UNAIDS Data 2017*. 2017; 1–248. http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/20170720_Data_book_2017_en.pdf.
- 2 WHO. *Consolidated Guidelines on the Use of Antiretroviral Drugs for Treating and Preventing HIV Infection: Recommendations for a Public Health Approach*. 2016. http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/208825/9789241549684_eng.pdf?sequence=1.
- 3 Pádua CAM, de César CC, Bonolo PF et al. Self-reported adverse reactions among patients initiating antiretroviral therapy in Brazil. *Braz J Infect Dis* 2007; **11**: 20–6.
- 4 Ribeiro FA, Tupinambás U, Fonseca MO et al. Durability of the first combined antiretroviral regimen in patients with AIDS at a reference center in Belo Horizonte, Brazil, from 1996 to 2005. *Braz J Infect Dis* 2012; **16**: 27–33.
- 5 Leutscher PDC, Stecher C, Storgaard M et al. Discontinuation of efavirenz therapy in HIV patients due to neuropsychiatric adverse effects. *Scand J Infect Dis* 2013; **45**: 645–51.
- 6 Marzolini C, Telenti A, Decosterd L et al. Efavirenz plasma levels can predict treatment failure and central nervous system side effects in HIV-1-infected patients. *AIDS* 2001; **15**: 71–5.
- 7 Ward BA, Gorski JC, Jones DR et al. The cytochrome P450 2B6 (CYP2B6) is the main catalyst of efavirenz primary and secondary metabolism: implication for HIV/AIDS therapy and utility of efavirenz as a substrate marker of CYP2B6 catalytic activity. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; **306**: 287–300.
- 8 Ogburn ET, Jones DR, Masters AR et al. Efavirenz primary and secondary metabolism in vitro and in vivo: identification of novel metabolic pathways and cytochrome P450 2A6 as the principal catalyst of efavirenz 7-hydroxylation. *Drug Metab Dispos* 2010; **38**: 1218–29.
- 9 Willson TM, Kliever SA. PXR, CAR and drug metabolism. *Nat Rev Drug Discov* 2002; **1**: 259–66.
- 10 Bae SK, Jeong Y-J, Lee C et al. Identification of human UGT isoforms responsible for glucuronidation of efavirenz and its three hydroxy metabolites. *Xenobiotica* 2011; **41**: 437–44.
- 11 Bélanger AS, Caron P, Harvey M et al. Glucuronidation of the antiretroviral drug efavirenz by UGT2B7 and an in vitro investigation of drug-drug interaction with zidovudine. *Drug Metab Dispos* 2009; **37**: 1793–6.
- 12 Haas DW, Ribaldo HJ, Kim RB et al. Pharmacogenetics of efavirenz and central nervous system side effects: an Adult AIDS Clinical Trials Group study. *AIDS* 2004; **18**: 2391–400.
- 13 Kwara A, Lartey M, Sagoe KW et al. CYP2B6, CYP2A6 and UGT2B7 genetic polymorphisms are predictors of efavirenz mid-dose concentration in HIV-infected patients. *AIDS* 2009; **23**: 2101–6.
- 14 Swart M, Whitehorn H, Ren Y et al. PXR and CAR single nucleotide polymorphisms influence plasma efavirenz levels in South African HIV/AIDS patients. *BMC Med Genet* 2012; **13**: 112.
- 15 Haas DW, Kwara A, Richardson DM et al. Secondary metabolism pathway polymorphisms and plasma efavirenz concentrations in HIV-infected adults with CYP2B6 slow metabolizer genotypes. *J Antimicrob Chemother* 2014; **69**: 2175–82.
- 16 Tsuchiya K, Gatanaga H, Tachikawa N et al. Homozygous CYP2B6 *6 (Q172H and K262R) correlates with high plasma efavirenz concentrations in HIV-1 patients treated with standard efavirenz-containing regimens. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; **319**: 1322–6.
- 17 Rotger M, Colombo S, Furrer H et al. Influence of CYP2B6 polymorphism on plasma and intracellular concentrations and toxicity of efavirenz and nevirapine in HIV-infected patients. *Pharmacogenet Genomics* 2005; **15**: 1–5.
- 18 Haas DW, Smeaton LM, Shafer RW et al. Pharmacogenetics of long-term responses to antiretroviral regimens containing efavirenz and/or nelfinavir: an Adult AIDS Clinical Trials Group study. *J Infect Dis* 2005; **192**: 1931–42.
- 19 Rodríguez-Nóvoa S, Barreiro P, Jiménez-Nácher I et al. Overview of the pharmacogenetics of HIV therapy. *Pharmacogenomics J* 2006; **6**: 234–45.
- 20 Holzinger ER, Grady B, Ritchie MD et al. Genome-wide association study of plasma efavirenz pharmacokinetics in AIDS Clinical Trials Group protocols implicates several CYP2B6 variants. *Pharmacogenet Genomics* 2012; **22**: 858–67.
- 21 Wyen C, Hendra H, Vogel M et al. Impact of CYP2B6 983T>C polymorphism on non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor plasma concentrations in HIV-infected patients. *J Antimicrob Chemother* 2008; **61**: 914–8.
- 22 Ribaldo HJ, Liu H, Schwab M et al. Effect of CYP2B6, ABCB1, and CYP3A5 polymorphisms on efavirenz pharmacokinetics and treatment response: an AIDS Clinical Trials Group study. *J Infect Dis* 2010; **202**: 717–22.
- 23 Fellay J, Marzolini C, Meaden E et al. Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: a pharmacogenetic study. *Lancet* 2002; **359**: 30–6.
- 24 Elens L, Vandercam B, Yombi J-C et al. Influence of host genetic factors on efavirenz plasma and intracellular pharmacokinetics in HIV-1-infected patients. *Pharmacogenomics* 2010; **11**: 1223–34.
- 25 Ngaimisi E, Habtewold A, Minzi O et al. 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* 2013; **8**: e67946.
- 26 Swart M, Ren Y, Smith P et al. ABCB1 4036A>G and 1236C>T polymorphisms affect plasma efavirenz levels in South African HIV/AIDS patients. *Front Genet* 2012; **3**: 236.
- 27 Mukonzo JK, Okwera A, Nakasujja N et al. Influence of efavirenz pharmacokinetics and pharmacogenetics on neuropsychological disorders in Ugandan HIV-positive patients with or without tuberculosis: a prospective cohort study. *BMC Infect Dis* 2013; **13**: 261.
- 28 Gounden V, van Niekerk C, Snyman T et al. Presence of the CYP2B6 516G>T polymorphism, increased plasma Efavirenz concentrations and early neuropsychiatric side effects in South African HIV-infected patients. *AIDS Res Ther* 2010; **7**: 32.
- 29 Suarez-Kurtz G. Pharmacogenetics in the Brazilian population. *Front Pharmacol* 2010; **1**: 118.
- 30 Arruda MB, Campagnari F, de Almeida TB et al. Single nucleotide polymorphisms in cellular drug transporters are associated with intolerance to antiretroviral therapy in Brazilian HIV-1 positive individuals. *PLoS One* 2016; **11**: e0163170.
- 31 Lins TC, Vieira RG, Abreu BS et al. Genetic composition of Brazilian population samples based on a set of twenty-eight ancestry informative SNPs. *Am J Hum Biol* 2010; **22**: 187–92.
- 32 Pritchard J, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* 2000; **155**: 945–59.
- 33 Falush D, Stephens M, Pritchard JK. Inference of population structure using multilocus genotype data: linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 2003; **164**: 1567–87.

- 34** Falush D, Stephens M, Pritchard JK. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. *Mol Ecol Notes* 2007; **7**: 574–8.
- 35** Hubisz MJ, Falush D, Stephens M et al. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol Ecol Resour* 2009; **9**: 1322–32.
- 36** Saloum de Neves Manta F, Pereira R, Vianna R et al. Revisiting the genetic ancestry of Brazilians using autosomal AIM-Indels. *PLoS One* 2013; **8**: e75145.
- 37** R Development Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. 2011. <https://www.R-project.org/>.
- 38** Müller TE, Ellwanger JH, Michita RT et al. CYP2B6 516 G>T polymorphism and side effects of the central nervous system in HIV-positive individuals under efavirenz treatment: study of a sample from southern Brazil. *An Acad Bras Ciênc* 2017; **89** Suppl 1: 497–504.
- 39** Coelho AVC, Silva SPS, De Alencar LCA et al. ABCB1 and ABCC1 variants associated with virological failure of first-line protease inhibitors antiretroviral regimens in northeast Brazil patients. *J Clin Pharmacol* 2013; **53**: 1286–93.
- 40** Ma Q, Vaida F, Wong J et al. Long-term efavirenz use is associated with worse neurocognitive functioning in HIV-infected patients. *J Neurovirol* 2016; **22**: 170–8.
- 41** Clifford DB, Evans S, Yang Y et al. Impact of efavirenz on neuropsychological performance and symptoms in HIV-infected individuals. *Ann Intern Med* 2005; **143**: 714–21.
- 42** Mollan KR, Tierney C, Hellwege JN et al. Race/ethnicity and the pharmacogenetics of reported suicidality with efavirenz among clinical trials participants. *J Infect Dis* 2017; **216**: 554–64.
- 43** Leger P, Chirwa S, Turner M et al. Pharmacogenetics of efavirenz discontinuation for reported central nervous system symptoms appears to differ by race. *Pharmacogenet Genomics* 2016; **26**: 473–80.
- 44** Michaud V, Bar-Magen T, Turgeon J et al. The dual role of pharmacogenetics in HIV treatment: mutations and polymorphisms regulating antiretroviral drug resistance and disposition. *Pharmacol Rev* 2012; **64**: 803–33.
- 45** Arab-Alameddine M, Di Iulio J, Buclin T et al. Pharmacogenetics-based population pharmacokinetic analysis of efavirenz in HIV-1-infected individuals. *Clin Pharmacol Ther* 2009; **85**: 485–94.
- 46** Stormer E, von Moltke LL, Perloff MD et al. Differential modulation of P-glycoprotein expression and activity by non-nucleoside HIV-1 reverse transcriptase inhibitors in cell culture. *Pharm Res* 2002; **19**: 1038–45.
- 47** Shou W, Wang D, Zhang K et al. Gene-wide characterization of common quantitative trait loci for ABCB1 mRNA expression in normal liver tissues in the Chinese population. *PLoS One* 2012; **7**: e46295.

Supplementary data

Table S1. Candidate genes and SNPs selected for case-control analysis

rs ID	Gene	Chr.	Position ^a	Alleles	MAF
rs2307424	<i>NR1I3</i>	1	161232815	G→A	0.24
rs2502815	<i>NR1I3</i>	1	161233437	G→A	0.29
rs3003596	<i>NR1I3</i>	1	161234427	A→G	0.39
rs1523130	<i>NR1I2</i>	3	119780660	T→C	0.36
rs3814055	<i>NR1I2</i>	3	119781188	C→T	0.31
rs1523127	<i>NR1I2</i>	3	119782192	C→A	0.38
rs2472677	<i>NR1I2</i>	3	119799570	C→T	0.49
rs12721613	<i>NR1I2</i>	3	119807329	C→T	0.08
rs12721607	<i>NR1I2</i>	3	119807356	G→A	0
rs72551372	<i>NR1I2</i>	3	119811625	C→T	0
rs72551374	<i>NR1I2</i>	3	119811695	A→G	0
rs6785049	<i>NR1I2</i>	3	119814886	G→A	0.33
rs3814057	<i>NR1I2</i>	3	119818407	A→C	0.36
rs3842	<i>ABCB1</i>	7	87504050	T→C	0.14
rs28364277	<i>ABCB1</i>	7	87504097	C→T	0.04
rs1882478	<i>ABCB1</i>	7	87507702	C→T	0.46
rs1045642	<i>ABCB1</i>	7	87509329	G→A	0.33
rs10808071	<i>ABCB1</i>	7	87511492	A→G	0.24
rs4148740	<i>ABCB1</i>	7	87522787	A→G	0.18
rs10225473	<i>ABCB1</i>	7	87525330	A→G	0.17
rs2032582	<i>ABCB1</i>	7	87531302	C→A	0.27
rs10248420	<i>ABCB1</i>	7	87535670	A→G	0.34
rs2091766	<i>ABCB1</i>	7	87545188	C→T	0.39

rs ID	Gene	Chr.	Position ^a	Alleles	MAF
rs2235013	<i>ABCB1</i>	7	87549310	T→C	0.49
rs1128503	<i>ABCB1</i>	7	87550285	G→A	0.33
rs2229109	<i>ABCB1</i>	7	87550493	C→T	0.03
rs3789244	<i>ABCB1</i>	7	87552533	T→G	0.35
rs13237132	<i>ABCB1</i>	7	87562353	C→G	0.27
rs10280623	<i>ABCB1</i>	7	87573228	T→C	0.27
rs1202179	<i>ABCB1</i>	7	87574963	T→C	0.35
rs17327624	<i>ABCB1</i>	7	87587501	G→T	0.21
rs9282564	<i>ABCB1</i>	7	87600124	T→C	0.05
rs13233308	<i>ABCB1</i>	7	87615644	C→T	0.28
rs10267099	<i>ABCB1</i>	7	87649444	A→G	0.2
rs776746	<i>CYP3A5</i>	7	99672916	C→T	0.39
rs28383468	<i>CYP3A5</i>	7	99676192	G→A	0
rs4986909	<i>CYP3A4</i>	7	99762047	G→A	0
rs12721629	<i>CYP3A4</i>	7	99762177	G→A	0
rs28371759	<i>CYP3A4</i>	7	99764003	A→G	0
rs4646437	<i>CYP3A4</i>	7	99767460	G→A	0.41
rs55901263	<i>CYP3A4</i>	7	99768371	G→C	0
rs35599367	<i>CYP3A4</i>	7	99768693	G→A	0.03
rs55951658	<i>CYP3A4</i>	7	99770202	T→C	0
rs2740574	<i>CYP3A4</i>	7	99784473	T→C	0.33
rs41303343	<i>CYP3A5</i>	7	99652770:99652771	DEL→A	0.05
rs5031017*	<i>CYP2A6</i>	19	40843845	G→T	0.27
rs376817657	<i>CYP2A6</i>	19	40844766	G→A	0
rs28399454	<i>CYP2A6</i>	19	40845362	C→T	0.03
rs140471703*	<i>CYP2A6</i>	19	40846912	G→A	0.41

rs ID	Gene	Chr.	Position ^a	Alleles	MAF
rs8192726	<i>CYP2A6</i>	19	40848591	C→A	0.03
rs1801272*	<i>CYP2A6</i>	19	40848628	A→T	0.02
rs143690364	<i>CYP2A6</i>	19	40849959	G→A	0
rs28399433	<i>CYP2A6</i>	19	40850474	A→C	0.05
rs8192709	<i>CYP2B6</i>	19	40991369	G→A	0.07
rs6508963	<i>CYP2B6</i>	19	40992828	T→C	0.27
rs4803417*	<i>CYP2B6</i>	19	41002115	A→C	0.29
rs4803419	<i>CYP2B6</i>	19	41006887	C→T	0.24
rs3745274	<i>CYP2B6</i>	19	41006936	G→T	0.32
rs34646544	<i>CYP2B6</i>	19	41009342	G→A	0
rs45482602	<i>CYP2B6</i>	19	41009350	G→T	0
rs2279343*	<i>CYP2B6</i>	19	41009358	G→A	0.29
rs12721649	<i>CYP2B6</i>	19	41009932	C→T	0.08
rs28399499	<i>CYP2B6</i>	19	41012316	T→C	0.02
rs35979566	<i>CYP2B6</i>	19	41012693	T→A	0.01
rs35010098	<i>CYP2B6</i>	19	41012803	C→A	0.01
rs7260525	<i>CYP2B6</i>	19	41017349	A→G	0.09
rs4803420	<i>CYP2B6</i>	19	41017655	G→T	0.13

^aChromosome positions are based on assembly GRCh38.p7

*Deviated from HWE

4. MANUSCRITO DO ARTIGO “EFAVIRENZ CENTRAL NERVOUS SYSTEM EFFECTS AND PSYCHIATRIC DISORDER-RELATED GENETIC POLYMORPHISMS IN HIV-POSITIVE BRAZILIANS”

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (ANEXO A). Todos os indivíduos incluídos no estudo assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO B).

4.1 CONTRIBUIÇÃO NO TRABALHO

Neste artigo, contribuí com a leitura de prontuários e seleção dos participantes, fui responsável pela seleção dos polimorfismos analisados, realizei as genotipagens por TaqMan® OpenArray® (ThermoFisher Scientific, Massachusetts, USA) e SNaPshot® (ThermoFisher Scientific, Massachusetts, USA), acompanhei as genotipagens com a plataforma Sequenom MassArray® iPLEX (Agena Bioscience™, California, USA), realizei as análises estatísticas e *in silico* e fui responsável pela redação do manuscrito artigo científico.

**Efavirenz Central Nervous System Effects and Psychiatric Disorder-Related
Genetic Polymorphisms in HIV-positive Brazilians**

Tailah Bernardo de Almeida¹, Marcelo Costa Velho Mendes de Azevedo², Isabela Espasandin Martins¹, Camila de Almeida Velozo¹, Paxton Baker, Amilcar Tanuri¹,
Cynthia C. Cardoso¹, David W. Haas^{3,4}

¹Laboratório de Virologia Molecular, Departamento de Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, Brasil;² Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Rio de Janeiro, Brasil; ³Vanderbilt University School of Medicine, Nashville, TN, USA; ⁴Meharry Medical College, Nashville, TN, USA

Running Title: Host genetics and Efavirenz CNS adverse reactions

Title: 106

Abstract word count: 164

Text word count: 1722

References: 36

Tables & Figures: 2

Supplemental on-line Tables and Figures: 1

ABSTRACT

Background: In a Brazilian HIV-1-positive cohort, we characterized associations between central nervous system efavirenz adverse effects and polymorphisms in 27 genes previously associated with psychiatric disorders.

Methods: We studied 179 individuals followed at a hospital in Rio de Janeiro, Brazil. Forty-three cases had efavirenz central nervous system adverse effects, while 136 controls had no adverse effect of any antiretroviral for at least 6 months. Associations between 30 polymorphisms and adverse effects were evaluated with logistic regression models adjusted for sex and genetic ancestry.

Results: Central nervous system adverse effects were nominally associated with *SLFN12L* rs8070473 (OR=3.53, p=0.011) and *FHIT* rs9825823 (OR=0.11, p=0.006). After adjusting for sex and genetic ancestry, rs8070473 (OR=3.15, p=0.039) and rs9825823 (OR=0.15, p=0.03) remained associated. There were no significant associations after correcting for multiple testing.

Conclusions: In a Brazilian population, we identified two candidate polymorphisms that may be associated with central nervous system efavirenz adverse effects. This warrants replication in other cohorts.

Keywords: HIV; efavirenz; pharmacogenetics; central nervous system adverse effects.

Introduction

Efavirenz is a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor widely used to treat HIV-1 infection, including in patients coinfecting with *Mycobacterium tuberculosis*. Antiretroviral regimens that combine efavirenz with tenofovir and either lamivudine or emtricitabine are prescribed once daily and are commercialized as generic forms, thus reducing cost¹. Nevertheless, efavirenz has been associated to adverse effects in as many as one-half of the individuals.^{2,3} These adverse effects most often involve the central nervous system (CNS) and vary from insomnia, nightmares and mood changes to depression, psychosis and suicidal ideation. Such effects typically improve or resolve with continued dosing, but remain a primary cause of premature treatment discontinuation.⁴

Increased likelihood of efavirenz CNS adverse effects has been associated with higher plasma efavirenz concentrations as a consequence of slower metabolism of this drug.⁵ Accordingly, single nucleotide polymorphisms (SNPs) in *CYP2B6*, which encodes the primary efavirenz metabolism enzyme⁶, have been associated to efavirenz pharmacokinetics and CNS adverse effects^{7,8}. However, this association is not clear in Brazilian population^{9,10}, suggesting that additional genetic and/or environmental factors may influence CNS outcomes.

Efavirenz has been shown to interact with serotonin and GABA receptors in brain, suggesting a possible mechanism for CNS adverse effects^{11–14}. Consequently, polymorphisms in genes related to these interactions might also influence susceptibility to efavirenz adverse effects. Psychiatric disorders such as depression and bipolar disorder exhibit strong heritability and a shared genetic component¹⁵ and polymorphisms mostly in genes expressed in brain have been associated to such

disorders^{16,17}. These polymorphisms, therefore, might also affect susceptibility to efavirenz-related psychiatric outcomes.

To investigate the genetics of efavirenz-related CNS adverse effects, we selected 34 candidate SNPs previously associated with psychiatric disorders and investigated association of these SNPs with efavirenz CNS adverse effects cohort of HIV-positive individuals in Brazil.

Methods

Study subjects

A total of 179 HIV-1-positive subjects receiving clinical follow-up at the Clinical Immunology Service of Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGG), in Rio de Janeiro, Brazil, were enrolled in this study. Subjects at least 18 years were considered eligible, regardless of gender. Inclusion criteria were availability of a complete history of antiretroviral therapy (ART) regimens in subject's medical record, and current or previous use of efavirenz-containing regimens. Subjects were excluded if they were treated for coinfection with tuberculosis or hepatitis, had adverse effects during pregnancy, had adverse effects to any antiretroviral other than efavirenz, or had efavirenz non-CNS adverse effects. Subjects who developed efavirenz CNS adverse effects were classified as cases (n=43). Subjects who tolerated efavirenz for at least 6 months without documented adverse effects were classified as controls (n=136). The most common adverse effects were hallucinations in 13 (30%), dizziness in 12 (26%) and nightmares in 7 (16%). This study was approved by the Research Ethics Committee of the HUGG. All procedures were performed in accordance with the

guidelines of the Helsinki Declaration. Written informed consent was provided by all subjects.

SNP selection

Twenty-seven candidate genes were selected for this study: *CACNA1C*, *CDH13*, *CDH18*, *CREB1*, *DDX50*, *EIF3F*, *FAM155A*, *FHIT*, *FKBP5*, *GABRA1*, *GABRA2*, *GABRA4*, *GNB3*, *GPHN*, *GRM8*, *HTR1A*, *HTR2A*, *HTR2C*, *HTR6*, *ITGB1*, *PCDH17*, *RORA*, *SLC6A2*, *SLC6A3*, *SLFN12L*, *SYNE1* and *TPH2*. From these genes, 34 SNPs were selected based on previously reported associations with other CNS disorders, or putative targets for efavirenz interaction in the brain (**Supplementary Table 1**). Selection of candidate genes and SNPs was performed through literature search and also using Haploreg¹⁸ and GWAS Catalog¹⁹ databases. Haploreg returns candidate regulatory SNPs associated with specific diseases, while GWAS Catalog tabulates genome-wide associations with specific traits, for which we used a threshold of $p \leq 5.0 \times 10^{-8}$.

DNA extraction and genotyping

A salting-out method was used to obtain genomic DNA extraction from buffy coat samples. Genotyping by Sequenom MassArray® iPLEX (Agena Bioscience™, California, USA) was done at Vanderbilt Technologies for Advanced Genomics (VANTAGE) in Nashville, TN. Data were analyzed using the Typer software (Agena Bioscience™, California, USA). SNP rs12912233 could not be genotyped by the Sequenom platform, so was genotyped using TaqMan® Drug Metabolism SNP Genotyping Assay (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA). All reactions were performed according to manufacturer's instructions.

Estimates of genetic ancestry

Proportions of African, European, and Native American genetic ancestries were estimated as previously described³. Briefly, proportions of each ancestry were estimated using Structure software, version 2.3.1^{20–23} under an admixture model using as a reference data from European and African populations of the 1000 Genomes Project. Native American ancestry was estimated using as a reference an admixed Amazonian population from Santa Isabel do Rio Negro, all of whom reported recent indigenous ancestry.²⁴

Statistical analysis

Statistical analysis were performed using R software (version 2.13.0) packages “genetics”, “gap”, “SNPassoc”, “haplo.stats”, “Ldheatmap”, “multtest”, “grid” and “coin” (R Core Team, 2013). Deviations from Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE) were assessed by χ^2 test. Pairwise linkage disequilibrium (LD) patterns were determined using the r^2 statistics (cutoff of $r^2 \geq 0.8$). Logistic regression models were performed to compare distributions of each SNP between cases and controls. SNPs were analyzed primarily under a codominant model and, secondarily under dominant or recessive models. Multivariate analyses were performed to control for possible confounding by sex and genetic ancestry (proportions of African and Native American ancestries). In a previous study based on the same subjects, we demonstrated the association between the composite *CYP2B6* genotype rs4803419CC-rs3745274TT-rs28399499TT and all-cause efavirenz adverse effects³. Therefore, genotypes of *CYP2B6* rs4803419, rs3745274 and rs28399499 were combined to generate a single variable with 10 ordinal categories of predicted plasma efavirenz exposure⁸ which was also included in adjusted regression models.

Results

Distributions of gender, age, genetic ancestry and *CYP2B6* genotypes in cases and controls are represented in **Table 1**. Two SNPs were excluded which deviated from HWE (rs2550936 and rs6318), and one which was monomorphic (rs147028191). SNPs rs2709370 and rs6785, located at *CREB1* gene, were in high LD (r^2 of 0.87), and rs2709370 was selected as a tag for rs6785. Therefore, 30 SNPs were included in association analyses.

Comparisons between cases and controls were performed by univariate and multivariate logistic regression, adjusting for sex and African and Native American ancestries. In univariate analyses (**Table 2**), and considering a nominal significance level of 0.05, there were significant associations for *FHIT* rs9825823 and *SLFN12L* rs8070473. Genotype rs9825823 CC was associated with decreased likelihood of efavirenz CNS adverse effects (OR=0.11; 95%CI: 0.01-0.88; p=0.006), which was also seen using a recessive model (OR = 0.10; 95%CI: 0.01-0.73; p=0.001).

Conversely, the risk estimates obtained from rs8070473 analyses suggested increased likelihood of efavirenz CNS adverse effects for rs8070473 GT (OR=2.90; 95%CI: 1.29-6.50; p=0.011) and rs8070473 TT (OR=3.53, 95%CI: 1.20-10.37; p=0.011). The increasing OR values suggested a possible allele-dose effect, and this trend was supported by a Cochran-Armitage test ($p = 0.013$). Results of dominant model confirmed association of the rs8070473 T allele (GT or TT genotypes) with increased risk (OR = 3.04; 95%CI: 1.41-6.56; $p = 0.003$). No nominally significant associations were observed for the remaining 28 SNPs in univariate models (**Supplementary Table 2**).

After adjusting for sex and genetic ancestry, similar OR values were obtained, with an apparent reduction in statistical power (**Table 2**). Genotype rs9825823 CC

presented a nominal association in additive model (OR=0.15; 95%CI:0.02-1.23; p=0.034) and in recessive model (OR=0.13; 95%CI: 0.02-1.02; p=0.01). Genotype rs8070473 TT also presented a nominal association in additive model (OR=3.15; 95%CI: 0.95-10.43; p=0.039) and dominant model (OR=3.00; 95%CI: 1.24-7.28; p=0.011). Results were unchanged when the composite *CYP2B6* genotype variable was included in multivariate models (data not shown). Haplotype analyses were also performed for genes in which multiple SNP were genotyped and no associations were found (data not shown).

Discussion

This study sought to identify novel genetic markers for susceptibility to efavirenz CNS adverse effects, beyond *CYP2B6* polymorphisms. For this purpose, we reviewed the literature to identify genes and SNPs that had previously been associated to psychiatric disturbances. Our results suggest associations between *SLFN12L* rs8070473 and *FHIT* rs9825823, and likelihood of efavirenz CNS adverse effects based on a nominal 0.05 significance level. Statistical significance persisted after adjusting for covariates. Inclusion of composite *CYP2B6* genotype in the regression model did not affect associations of rs8070473 or rs9825823 with efavirenz CNS adverse effects, suggesting that association with these SNPs may be independent of *CYP2B6* genotype.

Both *SLFN12L* rs8070473 and *FHIT* rs9825823 were previously reported to be associated to depression, with rs8070473 associated with decreased risk for depression at $p=1.5 \times 10^{-6}$ and rs9825823 associated with increased risk for depression at $p = 8.2 \times 10^{-9}$ ^{25,26}. In both instances, the association was in the opposite direction compared to our data. We do not have an explanation for this apparent

contradiction. Of note, *SLFN12L* does not appear to be highly expressed in human brain tissue (www.gtexportal.org/home/gene/SLFN12L).

SLFN genes encode interferon-induced proteins with functions related to cell growth and apoptosis²⁷. Schlafen family members are restriction factors for various viruses, including HIV-1. Schlafen 11 and 12 have been implicated in cancer treatment response, by affecting cell sensitivity to chemotherapy^{27,28,29}. In mice, schlafen 3 was shown to promote susceptibility to chemotherapy by regulating expression of the drug transporter ABCG2³⁰. Although function of schlafen 12 like protein (*SLFN12L*) is still unclear, these results suggest a possible mechanism for the association in our study, since *SLFN12L* might affect cells sensitivity to efavirenz.

FHIT encodes a triphosphate hydrolase involved in purine metabolism, and mutations that affect *FHIT* expression have been shown to decrease apoptosis and increase oxidative damage^{31,32}. Dysregulation in oxidative stress is commonly observed in psychiatric disorders such as depression and Alzheimer's disease³³⁻³⁶, suggesting that *FHIT* variations may indirectly affect susceptibility to efavirenz-related psychiatric outcomes. Of note, *FHIT* is expressed in human brain and many other tissues (<https://www.gtexportal.org/home/gene/FHIT>).

The associations identified in our study were not statistically significant after adjustment for multiple testing. Our relatively small sample size may have limited statistical power for association to achieve such a level of significance. In addition, we were unable to stratify our analysis according to specific type of CNS symptom, which may have obscured the ability to identify genetic associated with specific phenotypes. Additional studies with larger cohorts may replicate the associations suggested in the present study.

To our knowledge, the present study was the first to investigate association between efavirenz CNS adverse effects and SNPs previously reported to be associated with psychiatric traits, other than those involved with efavirenz metabolism. If these findings are replicated, these SNPs could potentially be used to help identify individuals in Brazil who are at greatest risk for efavirenz adverse effects.

Acknowledgments

We are grateful to Cara Sutcliffe and the VANTAGE team at Vanderbilt. We also thank Conselho Nacional de Desenvolvimento e Pesquisa (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for student's fellowship.

Funding

This work was supported by The Brazilian Ministry of Health (TC 235/2012) (CCC), and by National Institutes of Health grants AI077505, AI069439, and TR002243 (DWH).

Transparency Declarations

None to declare.

References

1. World Health Organization. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection: recommendations for a public health approach. *World Heal Organ* 2016; 155 p. Available at: www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html.
2. Gallien S, Journot V, Lorient M, *et al.* Cytochrome 2B6 polymorphism and efavirenz - induced central nervous system symptoms : a substudy of the ANRS ALIZE trial. *J Antimicrob Chemother* 2017; **6**: 537–45.
3. De Almeida TB, Costa M, Mendes V, *et al.* Drug metabolism and transport gene polymorphisms and efavirenz adverse effects in Brazilian HIV-positive individuals. *J Antimicrob Chemother* 2018: 1–11.
4. Scourfield A, Zheng J, Chinthapalli S, *et al.* Discontinuation of Atripla as first-line therapy in HIV-1 infected individuals. *Aids* 2012; **26**: 1399–401.
5. Marzolini C, Telenti A, Decosterd L, *et al.* Efavirenz plasma levels can predict treatment failure and central nervous system side effects in HIV-1-infected patients. *Aids* 2001; **15**: 71–5.
6. Ward B A, Gorski JC, Jones DR, *et al.* The cytochrome P450 2B6 (CYP2B6) is the main catalyst of efavirenz primary and secondary metabolism: implication for HIV/AIDS therapy and utility of efavirenz as a substrate marker of CYP2B6 catalytic activity. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; **306**: 287–300.
7. Gounden V, Van Niekerk C, Snyman T, *et al.* Presence of the CYP2B6 516G>T polymorphism, increased plasma Efavirenz concentrations and early neuropsychiatric side effects in South African HIV-infected patients. *AIDS Res Ther* 2010; **7**: 32.
8. Holzinger ER, Grady B, Ritchie MD, *et al.* Genome-wide association study of plasma efavirenz pharmacokinetics in AIDS Clinical Trials Group protocols implicates several CYP2B6 variants. *Pharmacogenet Genomics* 2012; **22**: 858–67.
9. Arruda MB, Campagnari F, De Almeida TB, *et al.* Single nucleotide polymorphisms in cellular drug transporters are associated with intolerance to antiretroviral therapy in

brazilian HIV-1 positive individuals. *PLoS One* 2016; **11**: 1–11.

10. Müller TE, Ellwanger JH, Michita RT, *et al.* CYP2B6 516 G>T polymorphism and side effects of the central nervous system in HIV-positive individuals under efavirenz treatment: Study of a sample from southern Brazil. *An Acad Bras Cienc* 2017; **89**: 497–504.

11. Einfeld C, Reichelt D, Evers S, *et al.* CSF penetration by antiretroviral drugs. *CNS Drugs* 2013; **27**: 31–55.

12. Dalwadi DA, Kim S, Amdani SM, *et al.* Molecular mechanisms of serotonergic action of the HIV-1 antiretroviral efavirenz. *Pharmacol Res* 2016; **110**: 10–24.

13. Gatch MB, Kozlenkov A, Huang R-Q, *et al.* The HIV Antiretroviral Drug Efavirenz has LSD-Like Properties. *Neuropsychopharmacology* 2013; **38**: 2373–84.

14. Huang R, Chen Z, Dolan S, *et al.* The dual modulatory effects of efavirenz on GABAA receptors are mediated via two distinct sites. *Neuropharmacology* 2017; **121**: 167–78.

15. Lee SH, Ripke S, Neale BM, *et al.* Genetic relationship between five psychiatric disorders estimated from genome-wide SNPs. *Nat Genet* 2013; **45**: 984–94.

16. Flint J, Kendler KS. The Genetics of Major Depression. *Neuron* 2014; **81**: 484–503.

17. Sullivan PF, Daly MJ, O'Donovan M. Genetic Architectures of Psychiatric Disorders: The Emerging Picture and Its Implications. *Nat Rev Genet* 2014; **13**: 537–51.

18. Ward LD, Kellis M. HaploReg: A resource for exploring chromatin states, conservation, and regulatory motif alterations within sets of genetically linked variants. *Nucleic Acids Res* 2012; **40**: 930–4.

19. Burdett T, Hall P, Hastings E, *et al.* The NHGRI-EBI Catalog of published genome-wide association studies. Available at: www.ebi.ac.uk/gwas. Accessed November 8, 2017.

20. Pritchard J, Stephens M, Donnelly P. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. *Genetics* 2000; **155**: 945–59.

21. Falush D, Stephens M, Pritchard JK. Inference of population structure using multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. *Genetics* 2003; **164**: 1567–87.
22. Falush D, Stephens M, Pritchard JK. Inference of population structure using multilocus genotype data: Dominant markers and null alleles. *Mol Ecol Notes* 2007; **7**: 574–8.
23. Hubisz MJ, Falush D, Stephens M, *et al.* Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol Ecol Resour* 2009; **9**: 1322–32.
24. Saloum de Neves Manta F, Pereira R, Vianna R, *et al.* Revisiting the Genetic Ancestry of Brazilians Using Autosomal AIM-Indels. *PLoS One* 2013; **8**: 1–11.
25. Direk N, Williams S, Smith JA, *et al.* An Analysis of Two Genome-wide Association Meta-analyses Identifies a New Locus for Broad Depression Phenotype. *Biol Psychiatry* 2017; **82**: 322–9.
26. Terracciano A, Tanaka T, Sutin A, *et al.* Florida State University Libraries Genome-Wide Association Scan of Trait Depression. *Biol Psychiatry* 2010; **68**: 811–7.
27. Liu F, Zhou P, Wang Q, *et al.* The Schlafen family : complex roles in different cell types and virus replication. *Cell Biol Int* 2018; **42**: 2–8.
28. Zoppoli G, Regairaz M, Leo E, *et al.* Putative DNA / RNA helicase Schlafen-11 (SLFN11) sensitizes cancer cells to DNA-damaging agents. 2012; **11**: 2–7.
29. De Waal L, Lewis TA, Rees MG, *et al.* Identification of cancer-cytotoxic modulators of PDE3A by predictive chemogenomics. *Nat Chem Biol* 2016; **12**: 102–8.
30. Oh P-S, Patel VB, Sanders MA, *et al.* Schlafen-3 decreases cancer stem cell marker expression and autocrine/juxtacrine signaling in FOLFOX-resistant colon cancer cells. *AJP Gastrointest Liver Physiol* 2011.
31. Waters CE, Saldivar JC, Hosseini SA, Huebner K. The FHIT gene product: tumor suppressor and genome ‘caretaker’. *Cell Mol Life Sci* 2014; **71**: 4577–87.
32. Saldivar JC, Bene J, Hosseini SA, *et al.* Characterization of the role of Fhit in suppression of DNA damage. *Adv Biol Regul* 2013; **53**: 77–85.

33. Olloquequi J, Cornejo-Córdova E, Verdaguer E, *et al.* Excitotoxicity in the pathogenesis of neurological and psychiatric disorders: Therapeutic implications. *J Psychopharmacol* 2018: 1-11.
34. Liu T, Zhong S, Liao X, *et al.* A meta-analysis of oxidative stress markers in depression. *PLoS One* 2015; **10**: 1–17.
35. Jorgensen A, Krogh J, Miskowiak K, *et al.* Systemic oxidatively generated DNA/RNA damage in clinical depression: Associations to symptom severity and response to electroconvulsive therapy. *J Affect Disord* 2013; **149**: 355–62.
36. Lovell MA, Soman S, Bradley MA. Oxidatively modified nucleic acids in preclinical Alzheimer's disease (PCAD) brain. *Mech Ageing Dev* 2011; **132**: 443–8.

Tables

Table 1: Characteristics of the study participants.

		Cases (n = 43)	Controls (n=136)	p-value
Sex, n (%)	Male	26 (60)	84 (62)	0.978 ^a
	Female	17 (40)	52 (38)	
Age, years (SD)		40.9 (11.9)	40.5 (10.3)	0.510 ^b
Genetic Ancestry % (SD)	European	41 (27)	51 (29)	0.071 ^b
	African	45 (28)	36 (28)	0.110 ^b
	Ameridian	14 (16)	13 (14)	0.950 ^b
Ordinal <i>CYP2B6</i> genotype levels rs4803419-rs3745274-rs28399499 n (%)	1. CC-GG-TT	5 (14)	27 (24)	0.245 ^a
	2. CT-GG-TT	11 (31)	19 (17)	
	3. TT-GG-TT	1 (3)	5 (4)	
	4. CC-GT-TT	8 (22)	31 (27)	
	5. CC-GG-CT	0	2 (2)	
	6. CT-GT-TT	6 (17)	24 (21)	
	7. CT-GG-CT	0	0	
	8. CC-TT-TT	4 (11)	4 (3)	
	9. CC-GT-CT	1 (3)	2 (2)	
	10. CC-GG-CC	0	0	

^a p-value determined by χ^2 test.

^b p-value determined by Mann-Whitney test.

Table 2: Associations between SNPs and efavirenz CNS adverse effects.

SNP genotype	Controls ^a	Cases ^a	OR (95%CI)	OR (95%CI) ^c
<i>rs8070473 (SLFN12L)</i>				
GG	68 (0.52)	11 (0.26)	- ^e	- ^e
GT	49 (0.37)	23 (0.55)	2.90 (1.29-6.50)	2.95 (1.17-7.45)
TT	14 (0.11)	8 (0.19)	3.53 (1.20-10.37)	3.15 (0.95-10.43)
	131	42	p=0.011 ^b	p=0.039 ^b
GG			- ^e	- ^e
GT-TT			3.04 (1.41 - 6.56)	3.00 (1.24-7.28)
			p=0.003 ^d	p=0.011 ^d
<i>rs9825823 (FHIT)</i>				
TT	38 (0.28)	13 (0.31)	- ^e	- ^e
TC	69 (0.52)	28 (0.67)	1.19 (0.55-2.56)	1.20 (0.52-2.79)
CC	27 (0.20)	1 (0.02)	0.11 (0.01-0.88)	0.15 (0.02-1.23)
	134	42	p=0.006 ^b	p=0.034 ^b
TT-TC			- ^e	- ^e
CC			0.10 (0.01-0.73)	0.13 (0.02-1.02)
			p=0.001 ^d	p=0.010 ^d

^aResults are shown as N (frequency) for SNP genotypes

^b overall p-value for codominant model (2 degrees of freedom)

^cresults adjusted for sex and African and Amerindian ancestry

^d overall p-value for dominant or recessive model (1 degree of freedom)

^e Reference

Supplementary Information

S1 Table: Candidate genes and SNPs selected for case-control analysis

rs ID	Gene	Chr.	Position ^a	Alleles	MAF ^b	Associated Trait	Reference	Association p-value	Population
rs1449984	<i>Intergenic</i>	2	23191780	A→G	0.21	Depression	Terracciano et al., 2010 ¹	6.6 x 10 ⁻⁶	Italy and US
rs2709370	<i>CREB1</i>	2	207517878	A→C	0.14	Bipolar Disorder	Li et al., 2013 ²	1.68 x 10 ⁻⁴	European ancestry
rs11904814	<i>CREB1</i>	2	207562074	T→G	0.29	Depression in males	Utge et al., 2009 ³	0.0008	Finland
rs6785	<i>CREB1</i>	2	207603273	G→A	0.14	Bipolar Disorder	Li et al., 2013 ²	6.32 x 10 ⁻⁵	European ancestry
rs9825823	<i>FHIT</i>	3	61096480	T→C	0.43	Depression	Direk et al., 2017 ⁴	8.2 x 10 ⁻⁹	European ancestry
rs535066	<i>GABRA2</i>	4	46238270	T→G	0.39	Epilepsy	Anney et al., 2014 ⁵	1,7 x 10 ⁻⁷	European, Asian and African ancestry
rs147028191	<i>GABRA2</i>	4	46412095	G→A	0	Alzheimer Disease	Herold et al., 2016 ⁶	1 x 10 ⁻⁹	US (European ancestry)
rs17641411	<i>GABRA4</i>	4	46941670	C→T	0.03	Cognitive Decline (age related)	Raj et al., 2016 ⁷	5.05 x 10 ⁻⁷	African Americans
rs27072	<i>SLC6A3</i>	5	1394407	A→C→T	0.19	Bipolar Disorder	Pinsonneault et al., 2011 ⁸	0.03	US (Caucasians)
rs8179029	<i>SLC6A3</i>	5	1409870	G→A	0.12	Depression	Dong et al., 2009 ⁹	0.02	Mexican-Americans

rs ID	Gene	Chr.	Position ^a	Alleles	MAF ^b	Associated Trait	Reference	Association p-value	Population
rs2550936	<i>SLC6A3</i>	5	1411141	A→C	0.44	Bipolar Disorder	Greenwood et al., 2013 ¹⁰	0.039	US, Canada (Caucasians)
rs349475	<i>CDH18</i>	5	19440059	C→T	0.42	Depression	Terracciano et al., 2010 ¹	2.4 x 10 ⁻⁶	Italy and US
rs6295	<i>HTR1A</i>	5	63962738	C→G	0.46	Psychiatric illness	Donaldson et al., 2016 ¹¹	0.025	African American
rs209345	<i>GABRA1</i>	5	162064381	T→C	0.1	Cognitive Decline	Li et al., 2015 ¹²	6 x 10 ⁻⁷	US
rs1360780	<i>FKBP5</i>	6	35639794	C→T	0.37	Depression	Lekman et al., 2008 ¹³	0.046	US (White non-hispanic and Black)
rs9371601	<i>SYNE1</i>	6	152469438	T→G	0.49	Depression/Bipolar Disorder	Green et al., 2013 ¹⁴	0.032; 0.009	British Isles (European)
rs17864092	<i>GRM8</i>	7	126999550	T→C	0.18	Depression	Terracciano et al., 2010 ¹	5.5 x 10 ⁻⁶	Italy and US
rs11009175	<i>ITGB1</i>	10	33005847	G→A	0.08	Depression	Terracciano et al., 2010 ¹	5.4 x 10 ⁻⁶	Italy and US
rs2017305	<i>DDX50</i>	10	68952306	A→G	0.06	Depression	Terracciano et al., 2010 ¹	9 x 10 ⁻⁶	Italy and US
rs12420464	<i>EIF3F</i>	11	7993230	G→T	0.03	Depression	Terracciano et al., 2010 ¹	3.3 x 10 ⁻⁶	Italy and US
rs1006737	<i>CACNA1C</i>	12	2236129	G→A	0.36	Bipolar Disorder/Schizophrenia	Ruderfer et al., 2014 ¹⁵	5.5 x 10 ⁻¹³	European ancestry
rs5443	<i>GNB3</i>	12	6845711	T→C	0.44	Depression	Costa et al, 2017 ¹⁶	0.016	Italy (Caucasians)

rs ID	Gene	Chr.	Position ^a	Alleles	MAF ^b	Associated Trait	Reference	Association p-value	Population
rs12229394	<i>TPH2</i>	12	71999134	G→A	0.3	Depression with fatigue	Utge et al., 2009 ³	0.005	Finland
rs10744304	<i>Intergenic</i>	12	127329196	G→A	0.5	Depression	Terracciano et al., 2010 ¹	8.7 x 10 ⁻⁶	Italy and US
rs7984966	<i>HTR2A</i>	13	46855311	T→C	0.29	Parkinson Disease and Lewy Body Pathology	Beecham et al., 2015 ¹⁷	2 x 10 ⁻⁶	US (European ancestry)
rs6311	<i>HTR2A</i>	13	46897343	C→T	0.43	Aggressiveness	Giegling et al., 2006 ¹⁸	0.011	Germany
rs9563520	<i>PCDH17</i>	13	57680496	T→C	0.24	Mood Disorder	Chang et al., 2017 ¹⁹	8.72 x 10 ⁻⁵	Sweden, Romania, Germany, Australia, US, China and Netherlands
rs1927745	<i>FAM155A</i>	13	107127968	G→A	0.26	Depression	Terracciano et al., 2010 ¹	4.7 x 10 ⁻⁶	Italy and US
rs8020095	<i>GPHN</i>	14	66987141	G→A	0.44	Depression	Hek et al., 2013 ²⁰	1,05 x 10 ⁻⁷	European
rs12912233	<i>RORA</i>	15	60974897	C→T	0.32	Depression	Terracciano et al., 2010 ¹	6 x 10 ⁻⁷	Italy and US
rs2242446	<i>SLC6A2</i>	16	55656513	T→C	0.3	Depression/Panic Disorder	Lee et al., 2005; Hahn et al., 2008 ^{21,22}	0.0037; 0.02	German; US
rs10514585	<i>CDH13</i>	16	83250733	G→A	0.27	Depression	Terracciano et al., 2010 ¹	4.9 x 10 ⁻⁶	Italy and US
rs8070473	<i>SLFN12L</i>	17	35516493	G→T	0.34	Depression	Terracciano et al., 2010 ¹	1.5 x 10 ⁻⁶	Italy and US

rs ID	Gene	Chr.	Position ^a	Alleles	MAF ^b	Associated Trait	Reference	Association p-value	Population
rs6318	<i>HTR2C</i>	X	114731326	G→C	0.25	Depression in females	Brummett et al., 2014 ²³	0.022	US (Whites)

^a Chromosome positions according to GRCh38.p7 assembly.

^b Minor allele frequencies obtained in the present study.

5. DISCUSSÃO

Um grande número de indivíduos HIV-positivos em tratamento faz uso do EFV. Recentemente, o Ministério da Saúde recomendou a substituição desse ARV por DTG na primeira linha de tratamento da cART. Contudo, o EFV ainda é amplamente utilizado na clínica, sendo indicado para crianças menores de 12 anos, gestantes, coinfectados com tuberculose em uso de rifampicina e pessoas que estejam em uso de carbamazepina, oxycarbamazepina, fenitobarbital ou fenitoína (COVIG/CGVP/DIAHV/SVS/MS, 2018). Por isso, a compreensão dos mecanismos que levam ao surgimento de efeitos adversos ao EFV é de suma importância para estabelecer procedimentos clínicos que possam evitar ou minimizar tais efeitos, permitindo uma melhor qualidade de vida para esses indivíduos.

Efeitos adversos ao EFV são frequentes, principalmente aqueles relacionados a distúrbios no SNC, e representam uma das principais razões de descontinuação do tratamento. No presente trabalho, aproximadamente 50% dos casos apresentaram efeitos adversos ao SNC, frequência similar a observada em outros estudos (LEUTSCHER et al., 2013; RIBEIRO et al., 2012). Dentre os tipos de efeitos adversos ao SNC, alucinação foi o mais frequente (30%).

Conforme descrito anteriormente, existe uma carência de estudos que correlacionem fatores genéticos humanos a efeitos adversos ao EFV e/ou alterações na concentração plasmática desse ARV na população brasileira. Até a presente data, existem apenas três estudos desse tipo na literatura, sendo um deles o incluído no corpo desta tese no Capítulo 2.

Muller e colaboradores (2017) utilizaram uma amostra de 50 indivíduos HIV-positivos do sul do Brasil para determinar a associação entre o SNP *CYP2B6* +516G>T (rs3745274) e efeitos adversos ao EFV relacionados ao SNC. Neste estudo, não foi encontrada associação estatisticamente significativa, o que pode ser devido ao reduzido poder estatístico do trabalho.

Um trabalho prévio do nosso grupo (ARRUDA et al, 2016; Apêndice A) buscou identificar SNPs associados à intolerância a diversos esquemas terapêuticos, incluindo aqueles contendo ITRNNs (EFV ou NVP). Tal estudo incluiu 396 participantes, entre casos e controles, e permitiu caracterizar a distribuição de frequência de diversos marcadores farmacogenéticos em uma amostra de HIV

positivos do Brasil. No que diz respeito aos esquemas contendo EFV ou NVP, foi investigada a associação entre 270 SNPs em 29 genes de ADME e intolerância a esses ARVs. Entre os candidatos, foram incluídos os genes *ABCB1*, *CYP2A6*, *CYP2B6*, *CYP3A4*, *CYP3A5* e *NR1I2*, também analisados no presente trabalho.

No estudo de Arruda, os SNPs rs12333983 (*CYP3A4*) e rs6785049 (*NR1I2*) foram associados a intolerância a EFV e NVP quando utilizado um nível de significância de 0,05. Porém, nenhuma associação foi significativa após ajuste para comparações múltiplas. Embora tenha sido a maior iniciativa de estudo de farmacogenética em HIV-positivos do Brasil até aquele momento, tendo analisado um grande número de marcadores, o estudo apresentou limitações principalmente no que diz respeito a definição de casos, uma vez que casos de intolerância a EFV e NVP foram analisados em conjunto. Ainda mais, os SNPs selecionados foram analisados individualmente, não sendo possível determinar os diferentes perfis de metabolismo de *CYP2B6*.

O presente estudo foi o primeiro no Brasil a utilizar a combinação dos genótipos dos SNPs *CYP2B6* +516G>T, +983T>C e +15582C>T que definem perfis de metabolismo extensivo, intermediário ou lento de EFV, conforme descrito por Holzinger e colaboradores (2012). Com base nesta estratégia, observamos que o haplótipo 516TT-983TT-15582CC e o grupo de metabolizadores lentos estão associados a efeitos adversos ao EFV na população estudada (OR=6,83; p=0,005 e OR=3.10; p=0,04, respectivamente). Contudo, a mesma associação não foi observada quando analisados apenas os casos de efeitos adversos no SNC. O reduzido número amostral desse grupo de casos pode ter sido limitante para observar associação entre esses SNPs clássicos e o desfecho em questão. Porém, não pode ser excluída a hipótese de que, para a população brasileira, esses SNPs não estejam envolvidos com o surgimento de efeitos adversos ao EFV especificamente no SNC.

Além do uso das combinações dos SNPs de *CYP2B6*, o presente estudo incluiu uma caracterização mais ampla, selecionando também os genes que codificam enzimas responsáveis pelas vias secundárias do metabolismo do EFV, assim como fatores de transcrição capazes de regular a expressão desses genes. Tal abordagem é importante para identificar variantes que possam compensar ou potencializar o efeito dos SNPs clássicos em *CYP2B6*, como já foi observado para *CYP2A6* por Kwara e colaboradores (2009). No presente estudo, o SNP rs4646437 (*CYP3A4*) foi associado

a efeitos adversos ao EFV no SNC (OR=4.95, p=0.059, modelo aditivo; OR=3.36, p=0.029, modelo dominante).

A resposta individual a medicamentos pode ser determinada pelo *background* genético. Indivíduos de diferentes grupos étnicos possuem respostas variadas a agentes terapêuticos específicos (ORTEGA; MEYERS, 2014). Isso já foi observado em relação a farmacogenética do EFV, onde estudos demonstram que determinados marcadores são informativos para uma etnia mas não para outras (LEGER et al., 2016; MOLLAN et al., 2017). Populações de grupos étnicos em que houve uma miscigenação recente, como a brasileira, possuem proporções de ancestralidade diferentes e, provavelmente, um estudo farmacogenético realizado no Brasil não apresentará resultados idênticos àqueles realizados em populações mais homogêneas. Como uma maneira de identificar o *background* genético da nossa população, foram genotipados marcadores informativos de ancestralidade, os quais nos permitiram ajustar os resultados das análises e eliminar possíveis efeitos de estratificação populacional. O uso deste ajuste nos permitiu verificar que a associação dos SNPs de *CYP2B6* se manteve após a correção para os perfis de ancestralidade.

O fato de EFV ter como efeito adverso mais comum os transtornos psiquiátricos o diferencia dos demais ARVs, já que estes ocasionam efeitos adversos menos específicos, tais como intolerância gastrointestinal e hepatotoxicidade (AIDSINFO, 2017). Essa característica específica do EFV levou o nosso grupo a buscar novos genes candidatos que poderiam estar associados a esse tipo de sintoma específico. Inicialmente, objetivou-se analisar candidatos que pudessem estar associados aos transtornos psiquiátricos em si, uma vez que muitos dos efeitos adversos ao EFV se assemelham com os sintomas observados em algumas doenças psiquiátricas, como depressão, ansiedade e transtorno bipolar. Ainda mais, esses distúrbios apresentam componentes genéticos em comum (LEE et al., 2013). Recentemente, Haas e colaboradores (2018) utilizaram abordagem semelhante ao investigar a associação entre SNPs em genes de receptores/transportadores de neurotransmissores e efeitos adversos de SNC. Não foram encontradas associações significativas neste trabalho.

No presente estudo, além de selecionar SNPs previamente associados a doenças psiquiátricas, foi utilizada uma segunda abordagem, na qual foram incluídos genes que codificam proteínas sabidamente capazes de interagir com EFV, como receptores dos neurotransmissores GABA e serotonina (DALWADI et al., 2016). SNPs

em tais genes também já haviam sido associados a doenças psiquiátricas, conforme descrito no Apêndice B.

Os resultados obtidos indicaram uma associação entre os SNPs rs8070473 (*SLFN12L*) e rs9825823 (*FHIT*) e efeitos adversos ao EFV relacionados ao SNC. É importante destacar que as associações observadas para os SNPs nos genes *SLFN12L* e *FHIT* não foram alteradas após ajuste para os SNPs clássicos de *CYP2B6*, indicando que estes marcadores devem possuir efeitos independentes. Entretanto, em ambos os casos, as associações não foram estatisticamente significativas após o ajuste para comparações múltiplas, o que ressalta a importância de estudos de replicação para validar o impacto desses SNPs no desfecho de efeitos adversos ao EFV no SNC.

As variantes rs8070473 e rs9825823 estão localizadas em regiões intrônicas, de modo que não se pode inferir de forma direta o possível impacto funcional destes SNPs. Ao realizarmos uma primeira análise *in silico* utilizando a ferramenta RegulomeDB, não foram observadas evidências de impacto funcional destes marcadores. Essa ferramenta analisa evidências da base de dados do ENCODE e estabelece scores com base na probabilidade de o marcador estar associado a variações de expressão (BOYLE et al., 2012). De forma semelhante, não foi previsto impacto funcional pela ferramenta MutationTaster, que realiza uma série de testes *in silico* que estimam o impacto da variante no gene ou proteína codificada (SCHWARZ et al., 2014). Também foi consultada a plataforma *The Brain eQTL Almanac* (Brainac), a qual permite a visualização da expressão gênica em diferentes regiões cerebrais e a estratificação dessa observação por SNPs específicos (UKBEC, 2013).

Os resultados obtidos não indicaram alterações significativas nos níveis de expressão de *SLFN12L* e *FHIT* em diferentes regiões do cérebro na presença dos SNPs rs8070473 e rs9825823, respectivamente (Figuras 5 e 6). Contudo, observou-se uma tendência de aumento da expressão de *SLFN12L* na substância branca intralobular na presença do alelo rs8070473 T ($p=0,037$). Modificações nessa região cerebral já foram correlacionadas com diversas doenças psiquiátricas, como esquizofrenia, transtorno bipolar (HERCHER; CHOPRA; BEASLEY, 2014) e psicose (LAGOPOULOS et al., 2013).

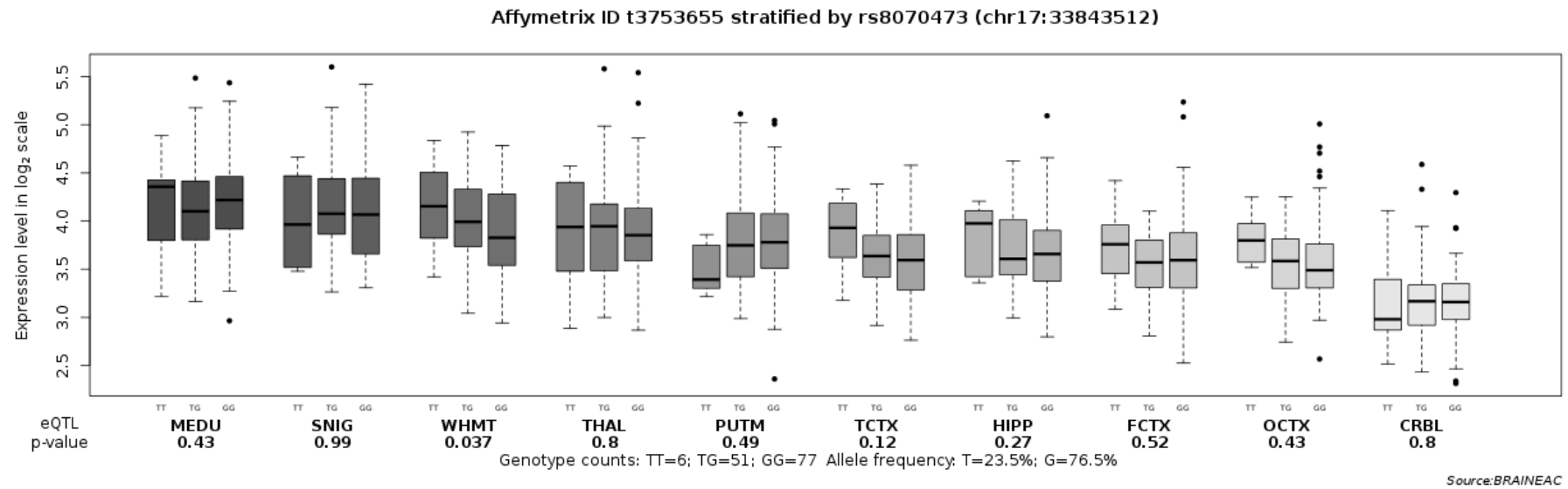


Figura 5 – Expressão de *SLFN12L* em diferentes regiões cerebrais em função dos genótipos de rs8070473. O eixo Y representa o nível de expressão gênica em uma escala logarítmica. O eixo x representa os genótipos de rs8070473 para cada região cerebral e o p-valor obtido quando comparados os níveis de expressão gênica de cada genótipo em uma mesma região. MEDU = medula; SNIG = Substância nigra; WHMT = Substância branca; THAL = Tálamo; PUTM = Putamen; TCTX = Córtex Temporal; HIPP = Hipotálamo; OCTX = Córtex Occipital; CRBL = Córtex Cerebelar.

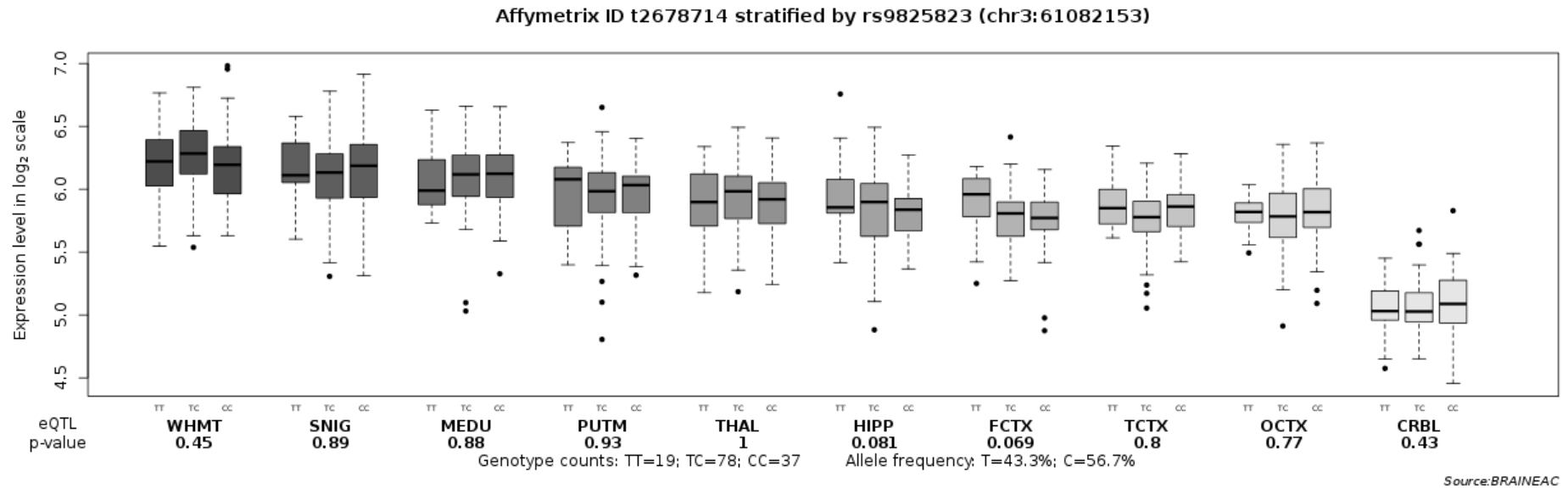


Figura 6 – Expressão de *FHT* em diferentes regiões cerebrais em função dos genótipos de rs9825823. O eixo Y representa o nível de expressão gênica em uma escala logarítmica. O eixo x representa os genótipos de rs9825823 para cada região cerebral e o p-valor obtido quando comparados os níveis de expressão gênica de cada genótipo em uma mesma região. MEDU = medula; SNIG = Substância nigra; WHMT = Substância branca; THAL = Tálamo; PUTM = Putamen; TCTX = Córtex Temporal; HIPP = Hipotálamo; OCTX = Córtex Occipital; CRBL = Córtex Cerebelar.

No presente trabalho, a presença do alelo rs8070473 T (genótipos GT e TT) foi associada a um maior risco de desenvolvimento de efeitos adversos ao EFV no SNC (OR=3,00, p=0.011). Conforme descrito no Capítulo 3, a função de *SLFN12L* ainda não é bem conhecida, sendo sugerido que tenha participação na diferenciação celular de monócitos (LIU et al., 2018). Por essa ausência de uma função bem elucidada, torna-se difícil estabelecer uma possível correlação entre os dados da plataforma Brainac e o estudo de associação aqui realizado.

O presente trabalho foi o primeiro estudo a demonstrar associação entre SNPs em genes de ADME e efeitos adversos ao EFV no Brasil, demonstrando a associação entre os SNPs clássicos em *CYP2B6* já descrita na literatura para diversas outras populações. Também foi o primeiro a indicar uma possível associação entre SNPs previamente associados a doenças psiquiátricas e efeitos adversos ao EFV no SNC. Uma replicação desses dados indicaria que esses SNPs poderiam ser utilizados como preditores genéticos adicionais para o desenvolvimento de efeitos adversos ao EFV no SNC na clínica. A genotipagem para SNPs em *CYP2B6*, entretanto, possui maior probabilidade de inclusão na rotina clínica, uma vez que a associação já foi validada em diferentes populações.

Um número crescente de estudos na literatura vem demonstrando correlação entre variantes genéticas e desfechos relacionados ao cART e/ou aos ARVs. Contudo, poucos desses achados apresentam relevância e suporte suficiente para serem utilizados na rotina clínica. Aqueles que se replicam em diversos estudos e diferentes populações possivelmente possuem uma aplicação mais viável. No contexto da terapia anti-HIV, o único exemplo atual de utilização clínica é do alelo *HLA-B*5701*, associado à hiperssensibilidade ao ABC (MALLAL et al., 2008). No Brasil, o Ministério da Saúde indica a realização de teste genético para identificar a presença do *HLA-B*5701* e alerta para a não utilização de ABC em indivíduos positivos para esse alelo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

O custo-benefício de uma possível incorporação da genotipagem de *CYP2B6* na rotina clínica foi elucidado por Schackman e colaboradores (2015). Os pesquisadores analisaram a hipótese de que uma redução na dosagem de EFV de 600mg para 400mg, baseada no genótipo de *CYP2B6*, seria eficiente para reduzir o surgimento de efeitos adversos e sem aumentar o custo do tratamento. Eles concluíram que dosar EFV com base em *CYP2B6* apresenta um custo-benefício maior

do que o tratamento convencional. Mais ainda, a genotipagem do indivíduo antes da prescrição de doses reduzidas de EFV reduziria as chances de que um indivíduo metabolizador extensivo tivesse concentrações plasmáticas de EFV subótimas. Com isso, o presente trabalho, ao demonstrar que SNPs em *CYP2B6* também possuem impacto na população brasileira, representa mais um achado que favorece a possibilidade de inclusão da genotipagem desse gene na rotina clínica.

O uso de marcadores farmacogenéticos permitiria que a cART fosse personalizada de acordo com o perfil genético de cada indivíduo. O desenvolvimento de tais estratégias é de fundamental importância especialmente nos casos em que o indivíduo apresenta comorbidades não relacionados a Aids. Nestes casos, o risco de efeitos adversos fica ainda mais elevado, devido ao uso concomitante de outros medicamentos, além dos ARVs. Além de ser vitalícia, a terapia anti-HIV tem se iniciado mais cedo, o que aumenta a necessidade de desenvolver mecanismos que favoreçam uma melhoria na qualidade de vida dos indivíduos em tratamento.

Idealmente, o tratamento individualizado consistiria em uma combinação de conhecimento do medicamento, do vírus e do hospedeiro, visando a eficácia e a segurança terapêutica (PAVLOS; PHILLIPS, 2011). Ainda que a maioria das descobertas farmacogenéticas relacionadas a respostas ao cART ainda não estejam prontas para utilização clínica, elas auxiliam na elucidação dos processos envolvidos na eficácia e toxicidade da terapia anti-HIV, podendo, no futuro, fazer parte da rotina clínica.

6. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos nos artigos científicos apresentados, oriundos da realização da presente tese, foi possível concluir que:

- Os genótipos de *CYP2B6* que representam os metabolizadores lentos (rs3745274TT ou rs3745274GT-rs28399499CT) estão associados com efeitos adversos ao EFV de qualquer tipo na população estudada;
- O genótipo de *CYP2B6* rs4803419CC-rs3745274TT-rs28399499TT, que representa o nível 8, está associado com efeitos adversos ao EFV de qualquer tipo na população estudada;
- O alelo SNPs rs4646437 (*CYP3A4*) apresenta associação de risco com efeitos adversos ao EFV relacionados ao SNC na população estudada, porém sem significância estatística após ajuste para comparações múltiplas;
- O alelo T do SNP rs8070473 (*SLFN12L*) apresenta associação de risco com efeitos adversos ao EFV relacionados ao SNC na população estudada, porém sem significância estatística após ajuste para comparações múltiplas;
- O alelo T do SNP rs9825823 (*FHIT*) apresenta uma associação de risco com efeitos adversos ao EFV relacionados ao SNC na população estudada, porém sem significância estatística após ajuste para comparações múltiplas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEL, S.; JENKINS, L; WHITLOCK, L. A. et al. Effects of CYP3A4 inducers with and without CYP3A4 inhibitors on the pharmacokinetics of maraviroc in healthy volunteers. **British Journal of Clinical Pharmacology**, 65(1):38–46, 2008.

ABERS, M. S.; SHANDERA, W. X.; KASS, J. S. Neurological and Psychiatric Adverse Effects of Antiretroviral Drugs. **CNS Drugs**, 28(2):131–145, 2014.

AIDSINFO. **Antiretroviral Therapy-Associated Common and/or Severe Adverse Effects**. 2017. Disponível em: <<https://aidsinfo.nih.gov/guidelines/htmltables/1/5551>>. Acesso em: 05/jun./18.

AIDSINFO. **Enfuvirtide | FDA Label - Kit | AIDSinfo**. 2017. Disponível em: <<https://aidsinfo.nih.gov/drugs/306/enfuvirtide/12/professional#S1>>. Acesso em: 28/abr./18.

ALEXAKI, A.; LIU, Y.; WIGDAHL, B. Cellular reservoirs of HIV-1 and their role in viral persistence. **Current HIV research**, 6(5):388–400, 2008.

ALIZON, M.; SONIGO, P.; BARRÉ-SINOUSI, F et al. Molecular cloning of lymphadenopathy-associated virus. **Nature**, 312(5996):757–60, 1984.

ALKHATIB, G.; COMBADIÈRE, C.; BRODER, C. C. et al. CC CKR5: a RANTES, MIP-1alpha, MIP-1beta receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. **Science**, 272(5270):1955–8, 1996.

ANTTILA, S.; HUKKANEN, J.; HAKKOLA, J. et al. Expression and localization of CYP3A4 and CYP3A5 in human lung. **American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology**, 16(3):242–249, 1997.

AOYAMA, T.; YAMANO, S.; GUZELIAN, P.S. et al. Five of 12 forms of vaccinia virus-expressed human hepatic cytochrome P450 metabolically activate aflatoxin B1. **PNAS**, 87(12):4790–3, 1990.

APOSTOLOVA, N.; GOMEZ-SUCERQUIA, L. J.; MORAN, A. et al. Enhanced oxidative stress and increased mitochondrial mass during Efavirenz-induced apoptosis in human hepatic cells. **British Journal of Pharmacology**, 160(8):2069–2084, 2010. APOSTOLOVA, N.; GOMEZ-SUCERQUIA, L. J.; ALEGRE, F. et al. ER stress in human hepatic cells treated with Efavirenz: Mitochondria again. **Journal of Hepatology**, 59(4):780–789, 2013.

APOSTOVOLA, N.; FUNES, H. A.; BLAS-GARCIA, A. et al Efavirenz and the CNS: What we already know and questions that need to be answered. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 70(10):2693–2708, 2015.

APOSTOVOLA, N.; BLAS-GARCIA, A.; GALINDO, M. J. et al. Efavirenz: What is known about the cellular mechanisms responsible for its adverse effects. **European Journal of Pharmacology**, 812, 163–173, 2017.

ARAB-ALAMEDDINE, M.; DI IULIO, J.; ROTGER, M. et al. Pharmacogenetics-Based Population Pharmacokinetic Analysis of Efavirenz in HIV-1-Infected Individuals. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, 85(5):485–494, 2009.

ARRUDA, M. B.; BOULLOSA, L. T.; CARDOSO, C. C. et al. Brazilian network for HIV Drug Resistance Surveillance (HIV-BresNet): a survey of treatment-naïve individuals. **Journal of the International AIDS Society**, 21(3):e25032, 2018.

ARRUDA, M. B.; CAMPAGNARI, F.; DE ALMEIDA, T. B. et al. Single nucleotide polymorphisms in cellular drug transporters are associated with intolerance to antiretroviral therapy in brazilian HIV-1 positive individuals. **PLoS ONE**, 11(9):e0163170, 2016.

ATWINE, D.; BONNET, M.; TABURET, A.-M. Pharmacokinetics of efavirenz in patients on antituberculosis treatment in high HIV and tuberculosis burden countries: a systematic review. **British Journal of Clinical Pharmacology**, [s.l.], 2018. DOI: 10.1111/bcp.13600.

AUERBACH, S. S.; RAMSDEN, R.; STONER, M. A. et al. Alternatively spliced isoforms of the human constitutive androstane receptor. **Nucleic Acids Research**, 31(12):3194–3207, 2003.

BAE, S. K.; JEONG, Y-J; LEE, C. et al. Identification of human UGT isoforms responsible for glucuronidation of efavirenz and its three hydroxy metabolites. **Xenobiotica**, 41(6):437–444, 2011.

BARBIER, O; TURGEON, D.; GIRARD, C. et al. 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT) is glucuronidated by human UDP-glucuronosyltransferase 2B7 (UGT2B7). **Drug metabolism and disposition**, 28(5):497–502, 2000.

BARRÉ-SINOUSSE, F.; CHERMANN, J. C.; NUGEYRE, M. T. et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science**, 220(4599):868–71, 1983.

BÉLANGER, A. S.; CARON, P.; HARVEY, M. et al. Glucuronidation of the antiretroviral drug efavirenz by UGT2B7 and an in vitro investigation of drug-drug interaction with zidovudine. **Drug Metabolism and Disposition**, 37(9):1793–1796, 2009.

BENNETT, N. J.; GILROY, S. A. **HIV Disease**. *Medscape*. 2014. Disponível em: <<https://emedicine.medscape.com/article/211316-overview>>. Acesso em: 28/abr./18.

BERGER, E. A.; MURPHY, P. M.; FARBER, J. M. CHEMOKINE RECEPTORS AS HIV-1 CORECEPTORS: Roles in Viral Entry, Tropism, and Disease. **Annual Review of Immunology**, 17(1):657–700, 1999.

BERTILSSON, G.; HEIDRICH, J.; SVENSSON, K. et al. Identification of a human nuclear receptor defines a new signaling pathway for CYP3A induction. **PNAS**, 95(21):12208–13, 1998.

BERTRAND, L.; TOBOREK, M. Dysregulation of Endoplasmic Reticulum Stress and Autophagic Responses by the Antiretroviral Drug Efavirenz. **Molecular Pharmacology**, 88(2):304–315, 2015.

BLAS-GARCÍA, A.; APOSTOVOLA, N.; BALLESTEROS, D. et al. Inhibition of mitochondrial function by efavirenz increases lipid content in hepatic cells. **Hepatology**, 52(1):115–125, 2010.

BORROW, P.; LEWICKI, H.; HAHN, B. H. et al. Virus-specific CD8+ cytotoxic T-lymphocyte activity associated with control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 infection. **Journal of virology**, 68(9):6103–10, 1994.

BOUR, S.; GELEZIUNAS, R.; WAINBERG, M. A. The human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) CD4 receptor and its central role in promotion of HIV-1 infection. **Microbiological reviews**, 59(1):63–93, 1995.

BOYLE, A.; HONG, E. L.; HARIHARAN, M. et al. Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB. **Genome Research**, 22(9):1790–1797, 2012.

BRADY, T.; AGOSTO, L. M.; MALANI, N. et al. HIV integration site distributions in resting and activated CD4+ T cells infected in culture. **AIDS**, 23(12):1461–1471, 2009.

BROOKS, J. T.; KAPLAN, J. E.; HOLMES, K. K. et al. HIV-Associated Opportunistic Infections—Going, Going, But Not Gone: The Continued Need for Prevention and

Treatment Guidelines. **Clinical Infectious Diseases**, 48(5):609–611, 2009.

BROWN, P. O.; BOWERMAN, B.; VARMUS, H. E. et al. Retroviral integration: structure of the initial covalent product and its precursor, and a role for the viral IN protein. **PNAS**, 86(8):2525–9, 1989.

BROWN, P. O.. **Integration**. In: COFFIN, J. M.; HUGHES, S. H.; VARMUS, H. E., eds. **Retroviruses**. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997:161–203.

BUBNOFF, A. Von; MCENERY, R. 30 Years of Aids Vaccine Research. **IAVI report: The Publication on Aids Vaccine Research**, 15(3):9–10, 2011.

CAVALCANTE, G.; CAPISTRANO, V.; CAVANCANTE, F. et al. Implications of Efavirenz for Neuropsychiatry: A Review. **International Journal of Neuroscience**, 120:12:739–745, 2010.

CDC. **Epidemiologic Notes and Reports Possible Transfusion-Associated Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS) -- California**. *MMWR*. 1982. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001203.htm>>. Acesso em: 27/abr./18.

CHAN, D. C.; KIM, P. S. HIV entry and its inhibition. **Cell**, 93(5):681–4, 1998.

CHANG, T. K.; WEBER, G. F.; CRESPI, C. L. et al. Differential activation of cyclophosphamide and ifosfamide by cytochromes P-450 2B and 3A in human liver microsomes. **Cancer research**, 53(23):5629–37, 1993.

CHEN, Y.; TANG, Y.; GUO, C. et al. Nuclear receptors in the multidrug resistance through the regulation of drug-metabolizing enzymes and drug transporters. **Biochemical Pharmacology**, 83(8):1112–1126, 2012.

CLAVEL, F.; GUÉTARD, D.; BRUN-VÉZINET, F. et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. **Science**, 233(4761):343–6, 1986.
CLERCQ, E. DE. The history of antiretrovirals: key discoveries over the past 25 years. **Reviews in Medical Virology**, 19(5):287–299, 2009.

CLOTET, B.; BELLOS, N.; MOLINA, J-M. et al. Efficacy and safety of darunavir-ritonavir at week 48 in treatment-experienced patients with HIV-1 infection in POWER

1 and 2: a pooled subgroup analysis of data from two randomised trials. **The Lancet**, 369(9568):1169–1178, 2007.

COELHO, A. V. C.; SILVA, S. P. S.; DE ALENCAR, L. et al. 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):1286–1293, 2013.

COFFIN, J.; HAASE, A.; LEVY, J. A. et al. Human immunodeficiency viruses. **Science**. 232(4751):697, 1986.

COFFIN, J. **Structure and classification of retroviruses**. LEVY, J. A. *The retroviridae*. New York: Plenum Press, 1992. p. 19–49.

COFFIN, J. M. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. **Science**, 267(5197):483–9, 1995.

COHEN, M. S.; CHEN, Y. Q.; MCCAULEY, M. et al. Prevention of HIV-1 Infection with Early Antiretroviral Therapy. **New England Journal of Medicine**, 365(6):493–505, 2011.

CONGIU, M.; MASHFORD, M. L.; SLAVIN, J. L. et al. UDP glucuronosyltransferase mRNA levels in human liver disease. **Drug metabolism and disposition**, 30(2):129–34, 2002.

COURT, M. H. Interindividual variability in hepatic drug glucuronidation: studies into the role of age, sex, enzyme inducers, and genetic polymorphism using the human liver bank as a model system. **Drug Metabolism Reviews**, 42(1):209–224, 2010.

CRAWFORD, E. L.; WEAVER, D. A.; DEMUTH, J. P. et al. Measurement of cytochrome P450 2A6 and 2E1 gene expression in primary human bronchial epithelial cells. **Carcinogenesis**, 199(10):1867–1871, 1998.

CULLEN, B. R. Nuclear mRNA export: insights from virology. **Trends in Biochemical Sciences**, 28(8):419–424, 2003.

DALWADI, D. A.; KIM, S.; AMDANI, S. et al. Molecular mechanisms of serotonergic action of the HIV-1 antiretroviral efavirenz. **Pharmacological Research**, 110:10–24, 2016.

DAVE, J. A.; COHEN, K.; MICKLESFIELD, L. K. et al. Antiretroviral Therapy, Especially Efavirenz, Is Associated with Low Bone Mineral Density in HIV-Infected South Africans. **PLOS ONE**, 10(12):e0144286, 2015.

DBSNP. **Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs28399499**. *NCBI*. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/snp_ref.cgi?rs=28399499>. Acesso em: 30/abr./18.

ECKERT, D. M.; KIM, P. S. Design of potent inhibitors of HIV-1 entry from the gp41 N-peptide region. **PNAS**, 98(20):11187–92, 2001.

EGGINK, D.; BERKHOUT, B.; SANDERS, R. W. Inhibition of HIV-1 by fusion inhibitors. **Current pharmaceutical design**, 16(33):3716–28, 2010.

ELENS, L.; VANDERCAM, B.; YOMBI, J-C et al. Influence of host genetic factors on efavirenz plasma and intracellular pharmacokinetics in HIV-1-infected patients. **Pharmacogenomics**, 11(9):1223–1234, 2010.

ERICE, A.; MAYERS, D. L.; STRIKE, D. G. et al. Primary Infection with Zidovudine-Resistant Human Immunodeficiency Virus Type 1. **New England Journal of Medicine**, 328(16):1163–1165, 1993.

ERICKSON, D. A.; MATHER, G.; TRAGER, W. F. et al. Characterization of the in vitro biotransformation of the HIV-1 reverse transcriptase inhibitor nevirapine by human hepatic cytochromes P-450. **Drug metabolism and disposition**, 27(12):1488–95, 1999.

ERICKSON, M. A.; BANKS, W. A. Blood-brain barrier dysfunction as a cause and consequence of Alzheimer's disease. **Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism**, 33(10):1500–1513, 2013.

FANALES-BELASIO, E.; RAIMONDO, M.; SULIGOI, B. et al. HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. **Annali dell'Istituto superiore di sanita**, 46(1):5–14, 2010.

FASSATI, A.; GOFF, S. P. Characterization of intracellular reverse transcription complexes of human immunodeficiency virus type 1. **Journal of virology**, 75(8):3626–35, 2001.

FAUCETTE, S. R.; ZHANG, T. C.; MOORE, R. et al. Relative Activation of Human Pregnane X Receptor versus Constitutive Androstane Receptor Defines Distinct Classes of CYP2B6 and CYP3A4 Inducers. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 320(1):72–80, 2007.

FAUCETTE, S. R.; SUEYOSHI, T.; SMITH, C. et al. Differential Regulation of Hepatic CYP2B6 and CYP3A4 Genes by Constitutive Androstane Receptor but Not Pregnane X Receptor. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 317(3):1200–1209, 2006.

FDA. **HIV/AIDS Treatment - Antiretroviral drugs used in the treatment of HIV infection**. US Food and Drug Administration, 2018. Disponível em: <<https://www.fda.gov/ForPatients/Illness/HIVAIDS/Treatment/ucm118915.htm>>. Acesso em: 28/abr./18.

FELLAY, J.; MARZOLINI, C.; MEADEN, E. et al. Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter gene MDR1: a pharmacogenetic study. **Lancet**, 359:30–36, 2002.

FENG, Y.; BRODER, C. C.; KENNEDY, P. E. et al. HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. **Science**, 272(5263):872–7, 1996.

FERNANDEZ-MONTERO, J. V.; BARREIRO, P.; LABARGA, P. et al. Dolutegravir, abacavir and lamivudine as HIV therapy. **Expert opinion on pharmacotherapy**, 15(7):1051–7, 2014.

FERNANDEZ-SALGUERO, P.; HOFFMAN, S. M.; CHOLERTON, S. et al. A genetic polymorphism in coumarin 7-hydroxylation: sequence of the human CYP2A genes and identification of variant CYP2A6 alleles. **American journal of human genetics**, 57(3):651–660, 1995.

FIOCRUZ. **RESUMO TÉCNICO EFAVIRENZ**. [s.d.]. Disponível em: <http://www2.far.fiocruz.br/farmanguinhos/images/stories/phocadownload/efavirenz_rt.pdf>. Acesso em: 31/maio/18.

FISCHL, M. A.; STANLEY, K.; COLLIER, A. C. et al. Combination and monotherapy with zidovudine and zalcitabine in patients with advanced HIV disease. The NIAID AIDS Clinical Trials Group. **Annals of internal medicine**, 22(1):24–32, 1995.

FRANKEL, A. D.; YOUNG, J. A. T. HIV-1: Fifteen Proteins and an RNA. **Annual Review of Biochemistry**, 67(1):1–25, 1998.

FREED, E. O.; MARTIN, M. A. **HIVs and their replication**. In: KNIPE, D. M.; AL., E. (Orgs.). *Fields Virology*. 4ª edição ed. Filadélfia: Lippincott, Williams e Wilkins, 2001. p. 1971–2041.

FUJITA, M.; OTSUKA, M.; NOMAGUCHI, M. et al. Multifaceted activity of HIV Vpr/Vpx proteins: the current view of their virological functions. **Reviews in Medical Virology**, 20(2):68–76, 2010.

FUMAZ, C. R.; MUNOZ-MORENO, J. A.; MOLTÓ, J. et al. Long-term Neuropsychiatric Disorders on Efavirenz-based Approaches: Quality of Life, Psychologic Issues, and Adherence. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, 38(5):560–565, 2005.

GAO, F.; YUE, L.; ROBERTSON, D. L. et al. Genetic diversity of human immunodeficiency virus type 2: evidence for distinct sequence subtypes with differences in virus biology. **J. Virol.**, 68(11):7433–7447, 1994.

GAO, W. Y.; CARA, A.; GALLO, R. C. et al. Low levels of deoxynucleotides in peripheral blood lymphocytes: a strategy to inhibit human immunodeficiency virus type 1 replication. **PNAS**, 90(19):8925–8, 1993.

GARTNER, S.; MARKOVITS, P.; MARKOVITZ, D. M. et al. The role of mononuclear phagocytes in HTLV-III/LAV infection. **Science**, 233(4760):215–9, 1986.

GATANAGA, H.; HAYASHIDA, T.; TSUCHIYA, K. et al. Successful Efavirenz Dose Reduction in HIV Type 1-Infected Individuals with Cytochrome P450 2B6 *6 and *26. **Clinical Infectious Diseases**, 45(9):1230–1237, 2007.

GATCH, M. B.; KOZLENKOV, A.; HUANG, R-Q. et al. The HIV Antiretroviral Drug Efavirenz has LSD-Like Properties. **Neuropsychopharmacology**, 38(12):2373–2384, 2013.

GAZZARD, B.; DUVIVIER, C.; ZAGLER, C. et al. Phase 2 double-blind, randomized trial of etravirine versus efavirenz in treatment-naive patients: 48-week results. **AIDS**, 25:2249–2258, 2011.

GONZALEZ, F. J.; CRESPI, C. L.; CZERWINSKI, M. et al. Analysis of human cytochrome P450 catalytic activities and expression. **The Tohoku journal of experimental medicine**, 168(2):67–72, 1992.

GÖTTE, M.; WAINBERG, M. A. Biochemical mechanisms involved in overcoming HIV resistance to nucleoside inhibitors of reverse transcriptase. **Drug Resistance Updates**, 3(1):30–38, 2000.

GOTTLIEB, M. S.; SCHROFF, R.; SCHANKER, H. et al. *Pneumocystis carinii* Pneumonia and Mucosal Candidiasis in Previously Healthy Homosexual Men. **New England Journal of Medicine**, 305(24):1425–1431, 1981.

GUENGERICH, F. P.; WU, Z.-L.; BARTLESON, C. J. Function of human cytochrome P450s: Characterization of the orphans. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 338(1):465–469, 2005.

GUENGERICH, F. P. Mechanism-based inactivation of human liver microsomal cytochrome P-450 IIIA4 by gestodene. **Chemical research in toxicology**, 3(4):363–71, 1990.

GÜRTLER, L. G.; HAUSER, P. H.; EBERLE, J. et al. A new subtype of human immunodeficiency virus type 1 (MVP-5180) from Cameroon. **Journal of virology**, 68(3):1581–5, 1994.

HAAS, D. W.; RIBAUDO, H. J.; KIM, R. B. et al. Pharmacogenetics of efavirenz and central nervous system side effects: an Adult AIDS Clinical Trials Group study. **Aids**, 18(18):2391–2400, 2004.

HAAS, D. W.; SMEATON, L. M.; SHAFER, R. W. et al. 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):1931–1942, 2005.

HAAS, D. W.; KWARA, A.; RICHARDSON, D. et al. Secondary metabolism pathway polymorphisms and plasma efavirenz concentrations in HIV-infected adults with CYP2B6 slow metabolizer genotypes. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 69(8):2175–2182, 2014.

HAAS, D. W.; BRADFORD, Y.; VERMA, A. et al. Brain neurotransmitter transporter / receptor genomics and efavirenz central nervous system adverse events.

Pharmacogenetics and Genomics, [s.l.], 2018. DOI: 10.1097/FPC.0000000000000341.

HANDSCHIN, C.; MEYER, U. A. Induction of Drug Metabolism: The Role of Nuclear Receptors. **Pharmacological Reviews**, 55(4):649–673, 2003.

HARIPARSAD, N.; NALLANI, S. C.; SANE, R. S. et al. Induction of CYP3A4 by efavirenz in primary human hepatocytes: comparison with rifampin and phenobarbital. **Journal of clinical pharmacology**, 44(11):1273–81, 2004.

HASSE, B.; GUNTARD, H. F.; BLEIBER, G. et al. Efavirenz intoxication due to slow hepatic metabolism. **Clinical infectious diseases**, 40(3):e22-3, 2005.

HAUBRICH, R. H.; RIDDLER, S. A.; DIRENZO, A. G. et al. Metabolic outcomes in a randomized trial of nucleoside, nonnucleoside and protease inhibitor-sparing regimens for initial Hiv treatment. **Aids**, 23(9):1109–1118, 2009.

HEALAN-GREENBERG, C.; WARING, J. F.; KEMPF, D. J. et al. A Human Immunodeficiency Virus Protease Inhibitor Is a Novel Functional Inhibitor of Human Pregnane X Receptor. **Drug Metabolism and Disposition**, 36(3):500–507, 2007.

HEMELAAR, J.; GOUWS, E.; GHYS, P. D. et al. Global and regional distribution of HIV-1 genetic subtypes and recombinants in 2004. **Aids**, 20(16):W13-23, 2006.

HEMELAAR, J.; GOUWS, E.; GHYS, P. Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000–2007. **AIDS**, 25(5):679–689, 2011.

HERCHER, C.; CHOPRA, V.; BEASLEY, C. L. Evidence for morphological alterations in prefrontal white matter glia in schizophrenia and bipolar disorder. **Journal of psychiatry & neuroscience**, 39(6):376–85, 2014.

HEYN, H.; WHITE, R. B.; STEVENS, J. C. Catalytic role of cytochrome P4502B6 in the N-demethylation of S-mephenytoin. **Drug metabolism and disposition**, 24(9):948–54, 1996.

HICKS, C. B.; CAHN, P.; COOPER, D. A. et al. Durable efficacy of tipranavir-ritonavir in combination with an optimised background regimen of antiretroviral drugs for treatment-experienced HIV-1-infected patients at 48 weeks in the Randomized Evaluation of Strategic Intervention in multi-drug reSistant patients with Tipranavir

(RESIST) studies: an analysis of combined data from two randomised open-label trials. **The Lancet**, 368(9534):466–475, 2006.

HOFFMAN, S. M.; FERNANDEZ-SALGUERO, P.; GONZALEZ, F. J. et al. Organization and evolution of the cytochrome P450 CYP2A-2B-2F subfamily gene cluster on human chromosome 19. **Journal of molecular evolution**, 41(6):894–900, 1995.

HOFMANN, M. H.; BLIEVERNICHT, J. K.; KLEIN, K. et al. Aberrant Splicing Caused by Single Nucleotide Polymorphism c.516G>T [Q172H], a Marker of CYP2B6*6, Is Responsible for Decreased Expression and Activity of CYP2B6 in Liver. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 325(1):284–292, 2008.

HOLZINGER, E. R.; GRADY, B.; RITCHIE, M. et al. Genome-wide association study of plasma efavirenz pharmacokinetics in AIDS Clinical Trials Group protocols implicates several CYP2B6 variants. **Pharmacogenetics and Genomics**, 22(12):858–867, 2012.

HUANG, R.; CHEN, Z.; DOLAN, S. et al. The dual modulatory effects of efavirenz on GABAA receptors are mediated via two distinct sites. **Neuropharmacology**, 121:167–178, 2017.

HUKKANEN, J.; VAISANEN, T.; LASSILA, A. et al. Regulation of CYP3A5 by glucocorticoids and cigarette smoke in human lung-derived cells. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, 304(2):745–52, 2003.

INDIANA UNIVERSITY. **Flockhart Table: P450 Drug Interaction Table**. *Indiana University*. 2016. Disponível em: <<http://medicine.iupui.edu/clinpharm/ddis/main-table/>>. Acesso em: 25/abr./18.

INOUE, K.; INAZAWA, J.; NAKAGAWA, H. et al. Assignment of the human cytochrome P-450 nifedipine oxidase gene (CYP3A4) to chromosome 7 at band q22.1 by fluorescence in situ hybridization. **The Japanese Journal of Human Genetics**, 37(2):133–138, 1992.

ISEL, C.; LANCHY, J. M.; LE GRICE, S. F. et al. Specific initiation and switch to elongation of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcription require the post-transcriptional modifications of primer tRNA³Lys. **The EMBO journal**, 15(4):917–24, 1996.

JANMOHAMED, A.; DOLPHIN, C. T.; PHILLIPS, I. R. et al. Quantification and cellular localization of expression in human skin of genes encoding flavin-containing monooxygenases and cytochromes P450. **Biochemical pharmacology**, 62(6):777–86, 2001.

KAHN, J. O.; WALKER, B. D. Acute Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection. **New England Journal of Medicine**, 339(1):33–39, 1998.

KASHANCHI, F.; WOOD, C. Human immune deficiency viral long terminal repeat is functional and can be trans-activated in Escherichia coli. **PNAS**, 86:2157–2161, 1989.

KASSAHUN, K.; MCINTOSH, I.; CUI, D. et al. Metabolism and Disposition in Humans of Raltegravir (MK-0518), an Anti-AIDS Drug Targeting the Human Immunodeficiency Virus 1 Integrase Enzyme. **Drug Metabolism and Disposition**, 35(9):1657–1663, 2007.

KIVISTÖ, K. T.; BOOKJANS, G.; FROMM, M. F. et al. Expression of CYP3A4, CYP3A5 and CYP3A7 in human duodenal tissue. **British journal of clinical pharmacology**, 42(3):387–9, 1996.

KOCH, I.; WEIL, R.; WOLBOLD, R. et al. Interindividual variability and tissue-specificity in the expression of cytochrome P450 3A mRNA. **Drug metabolism and disposition**, 30(10):1108–14, 2002.

KOHL, N. E.; EMINI, E. A.; SCHLEIF, W. A. et al. Active human immunodeficiency virus protease is required for viral infectivity. **PNAS**, 85(13):4686–90, 1988.

KOLARS, J. C.; LOWN, K. S.; SCHMIEDLIN-REN, P. et al. CYP3A gene expression in human gut epithelium. **Pharmacogenetics**, 4(5):247–59, 1994.

KORTEKAAS, R.; LEENDERS, K. L.; VAN OOSTROM, J. et al. Blood-brain barrier dysfunction in Parkinsonian midbrain in vivo. **Annals of Neurology**, 57(2):176–179, 2005.

KOSKELA, S.; HAKKOLA, J.; HUKKANEN, J. et al. Expression of 2A genes in human liver and extrahepatic tissues. **Biochem Pharmacol**, 57(12):1407–1413, 1999.
KUEHL, P.; ZHANG, J.; LIN, Y. et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. **Nature Genetics**, 27(4):383–391, 2001.

KWARA, A.; LARTEY, M.; SAGOE, K. W. et al. CYP2B6 (c.516G>T) and CYP2A6 (*9B and/or *17) polymorphisms are independent predictors of efavirenz plasma concentrations in HIV-infected patients. **British Journal of Clinical Pharmacology**, 67(4):427–436, 2009.

LAGOPOULOS, J.; HERMENS, D; F.; HATTON, S. N. et al. Microstructural white matter changes are correlated with the stage of psychiatric illness. **Translational Psychiatry**, 3:e248, 2013.

LAMBA, J. K.; LAMBA, V.; YASUDA, K. et al. Expression of Constitutive Androstane Receptor Splice Variants in Human Tissues and Their Functional Consequences. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 311(2):811–821, 2004.

LAMBA, V.; LAMBA, J.; YASUDA, K. et al. Hepatic CYP2B6 expression: gender and ethnic differences and relationship to CYP2B6 genotype and CAR (constitutive androstane receptor) expression. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 307(3):906–922, 2003.

LAROCHELLE, C.; ALVAREZ, J. I.; PRAT, A. How do immune cells overcome the blood-brain barrier in multiple sclerosis? **FEBS Letters**, 585(23):3770–3780, 2011.

LASKEY, S. B.; SILICIANO, R. F. A mechanistic theory to explain the efficacy of antiretroviral therapy. **Nature Reviews Microbiology**, 12(11):772–780, 2014.

LEE, S.-J.; USMANI, K. A.; CHANAS, B. et al. Genetic findings and functional studies of human CYP3A5 single nucleotide polymorphisms in different ethnic groups. **Pharmacogenetics**, 13(8):461–72, 2003.

LEE, S. H.; RIPKE, S.; NEALE, B. M. et al. Genetic relationship between five psychiatric disorders estimated from genome-wide SNPs. **Nature Genetics**, 45(9):984–994, 2013.

LEGER, P.; CHIRWA, S.; TURNER, M. et al. Pharmacogenetics of efavirenz discontinuation for reported central nervous system symptoms appears to differ by race. **Pharmacogenetics and Genomics**, 26(10):473–480, 2016.

LEHMANN, J. M.; MCKEE, D. D.; WATSON, M. A. et al. The human orphan nuclear receptor PXR is activated by compounds that regulate CYP3A4 gene expression and cause drug interactions. **Journal of Clinical Investigation**, 102(5):1016–1023, 1998.

LEUTSCHER, P. D. C.; STECHER, C.; STORGAARD, M. et al. Discontinuation of efavirenz therapy in HIV patients due to neuropsychiatric adverse effects. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, 45(8):645–651, 2013.

LIU, F.; ZHOU, P.; WANG, Q. et al. The Schlafen family : complex roles in different cell types and virus replication. **Cell Biol Int**, 42:2–8, 2018.

LÓPEZ-CORTÉS, L. F.; RUIZ-VALDERAS, R.; VICIANA, P. et al. Pharmacokinetic interactions between efavirenz and rifampicin in HIV-infected patients with tuberculosis. **Clinical pharmacokinetics**, 41(9):681–90, 2002.

LOWENHAUPT, E. A.; MATSON, K.; QUREISHI, B. et al. Psychosis in a 12-year-old HIV-positive girl with an increased serum concentration of efavirenz. **Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, 45(10):e128-30, 2007.

LOWN, K. S.; KOLARS, J. C.; THUMMEL, K. E. et al. Interpatient heterogeneity in expression of CYP3A4 and CYP3A5 in small bowel. Lack of prediction by the erythromycin breath test. **Drug metabolism and disposition**, 22(6):947–55, 1994.

MACARTHUR, R. D.; NOVAK, R. M. Reviews Of Anti-infective Agents: Maraviroc: The First of a New Class of Antiretroviral Agents. **Clinical Infectious Diseases**, 47(2):236–241, 2008.

MADDON, P. J.; DALGLEISH, A. G.; MCDUGAL, J. S. et al. The T4 gene encodes the AIDS virus receptor and is expressed in the immune system and the brain. **Cell**, 47(3):333–48, 1986.

MALLAL, S.; PHILLIPS, E.; CAROSI, G. et al. HLA-B*5701 Screening for Hypersensitivity to Abacavir. **New England Journal of Medicine**, 358(6):568–579, 2008.

MANFREDI, R.; CALZA, L.; CHIODO, F. An Extremely Different Dysmetabolic Profile Between the Two Available Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors: Efavirenz and Nevirapine. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, 38(2):236–238, 2005.

MARZOLINI, C.; TELENTI, A.; DECOSTERD, L. et al. Efavirenz plasma levels can predict treatment failure and central nervous system side effects in HIV-1-infected patients. **Aids**, 15(9):71–75, 2001.

MASUR, H.; MICHELIS, M. A.; GREENE, J. B. et al. An Outbreak of Community-Acquired *Pneumocystis carinii* Pneumonia. **New England Journal of Medicine**, 305(24):1431–1438, 1981.

MCDONAGH, E. M., LAU, J. L.; ALVARELLOS, M. et al. **PharmGKB summary: Efavirenz pathway, pharmacokinetics**. Pharmacogenetics and Genomics. 2015. Disponível em: <<https://www.pharmgkb.org/pathway/PA166123135>>. Acesso em: 30/abr./18.

MELIKYAN, G. B.; MARKOSYAN, R. M.; HEMMATI, H. et al. Evidence that the transition of HIV-1 gp41 into a six-helix bundle, not the bundle configuration, induces membrane fusion. **The Journal of cell biology**, 151(2):413–23, 2000.

MÉNARD, V.; EAP, O.; ROBERGE, J. et al. Transcriptional diversity at the UGT2B7 locus is dictated by extensive pre-mRNA splicing mechanisms that give rise to multiple mRNA splice variants. **Pharmacogenetics and Genomics**, 21(10):631–641, 2011.

MEYER, S. DE; AZIJN, H.; SURLERAUZ, D. et al. TMC114, a Novel Human Immunodeficiency Virus Type 1 Protease Inhibitor Active against Protease Inhibitor-Resistant Viruses, Including a Broad Range of Clinical Isolates. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, 49(6):2314–2321, 2005.

MICHAUD, V.; BAR-MAGEN, T.; TURGEON, J. et al. The Dual Role of Pharmacogenetics in HIV Treatment: Mutations and Polymorphisms Regulating Antiretroviral Drug Resistance and Disposition. **Pharmacological Reviews**, 64(3):803–833, 2012.

MIMURA, M.; BABA, T.; YAMAZAKI, H. et al. Characterization of cytochrome P-450 2B6 in human liver microsomes. **Drug metabolism and disposition**, 21(6):1048–56, 1993.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual Técnico para Diagnóstico da Infecção pelo HIV | Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/Aids das Hepatites Virais**. 2016. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pt-br/node/57787>>. Acesso em: 02/maio/18.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim epidemiológico HIV/Aids 2017 | Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/Aids das Hepatites Virais. Boletim de Aids e DST HIV/Aids IST**. 2017a. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2017/boletim-epidemiologico-hivaid-2017>>. Acesso em: 27/abr./18.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos | Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/Aids das Hepatites Virais**. 2017b. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2013/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-manejo-da-infeccao-pelo-hiv-em-adultos>>. Acesso em: 10/maio/18.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Conheça os novos critérios para a substituição de esquemas de TARV para o uso do Dolutegravir | Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/Aids das Hepatites Virais**. 2018a. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pt-br/noticias/conheca-os-novos-criterios-para-substituicao-de-esquemas-de-tarv-para-o-uso-do-dolutegravir>>. Acesso em: 01/maio/18.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Ministério da Saúde estende tratamento para todos com HIV | Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das IST, do HIV/Aids das Hepatites Virais**. 2018b. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pt-br/noticias/ministerio-da-saude-estende-tratamento-para-todos-com-hiv>>. Acesso em: 28/abr./18.

MO, S.-L.; LIU, Y.H.; DUAN, W. et al. Substrate specificity, regulation, and polymorphism of human cytochrome P450 2B6. **Current drug metabolism**, 10(7):730–53, 2009.

MOLLAN, K. R.; SMURZYMSKI, M.; ERON, J. J. et al. Association between Efavirenz as Initial Therapy for HIV-1 Infection and Increased Risk of Suicidal Ideation, Attempted, or Completed Suicide. **Annals of Internal Medicine**, 161(1):1–10, 2014.

MOLLAN, K. R.; TIERNEY, C.; HELLWEGE, J. N. et al. Race/Ethnicity and the Pharmacogenetics of Reported Suicidality With Efavirenz Among Clinical Trials Participants. **The Journal of Infectious Diseases**, 216:554–64, 2017.

MUKONZO, J. K.; OKWERA, A.; NAKASUJJA, N. et al. 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(261):1–11, 2013.

MÜLLER, T. E.; ELLWANGER, J. H.; MICHITA, R. T. et al. CYP2B6 516 G>T polymorphism and side effects of the central nervous system in HIV-positive individuals under efavirenz treatment: Study of a sample from southern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, 89(1):497–504, 2017.

MUTLIB, A. E.; CHEN, H.; NEMETH, G. A. et al. Identification and Characterization of Efavirenz Metabolites by Liquid Chromatography/Mass Spectrometry and High Field NMR: Species Differences in the Metabolism of Efavirenz. **Drug Metabolism and Disposition**, 27(11):1319-33, 1999.

NACHEGA, J. B.; PARIENTI, J. J.; UTHMAN, O. et al. Lower pill burden and once-daily antiretroviral treatment regimens for HIV infection: A meta-analysis of randomized controlled trials. **Clinical Infectious Diseases**, 58(9):1297–1307, 2014.

NAKAGAWA, S.; CASTRO, V.; TOBOREK, M. Infection of human pericytes by HIV-1 disrupts the integrity of the blood-brain barrier. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, 16(12):2950–2957, 2012.

NELSON, D. R.; KOYMANS, L.; KAMATAKI, T. et al. P450 superfamily: update on new sequences, gene mapping, accession numbers and nomenclature. **Pharmacogenetics**, 6(1):1–42, 1996.

NEUKAM, K.; MIRA, J. A.; RUIZ-MORALES, J. et al. Liver toxicity associated with antiretroviral therapy including efavirenz or ritonavir-boosted protease inhibitors in a cohort of HIV/hepatitis C virus co-infected patients. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 66(11):2605–2614, 2011.

NGAIMISI, E.; HABTEWOLD, A.; MINZI, O. et al. 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):e67946, 2013.

NIEMI, M.; BACKMAN, J. T.; FROMM, M. F. et al. Pharmacokinetic Interactions with Rifampicin. **Clinical Pharmacokinetics**, 42(9):819–850, 2003.

NIH. **What Not to Use | Adult and Adolescent ARV | AIDSinfo**. 2017. Disponível em: <<https://aidsinfo.nih.gov/guidelines/html/1/adult-and-adolescent-arv/12/what-not-to-use>>. Acesso em: 30/maio/18.

NIH. **Antiretroviral Drug Discovery and Development | NIH: National Institute of Allergy and Infectious Diseases**. 2017a. Disponível em: <<https://www.niaid.nih.gov/diseases-conditions/antiretroviral-drug-development>>. Acesso em: 30/maio/18.

NIH. **Future Directions for HIV Treatment Research | NIH: National Institute of**

Allergy and Infectious Diseases. 2017b. Disponível em: <<https://www.niaid.nih.gov/diseases-conditions/future-hiv-treatment>>. Acesso em: 30/maio/18.

O'BRIEN, W. A.; KOYANAGI, Y.; NAMAZIE, A. et al. HIV-1 tropism for mononuclear phagocytes can be determined by regions of gp120 outside the CD4-binding domain. **Nature**, 348(6296):69–73, 1990.

ODA, S.; FUKAMI, T.; YOKOI, T. et al. A comprehensive review of UDP-glucuronosyltransferase and esterases for drug development. **Drug Metabolism and Pharmacokinetics**, 30(1):30–51, 2015.

OGBURN, E. T.; JONES, D. R.; MASTERS, A. et al. Efavirenz primary and secondary metabolism in vitro and in vivo: Identification of novel metabolic pathways and cytochrome P450 2A6 as the principal catalyst of efavirenz 7-hydroxylation. **Drug Metabolism and Disposition**, 38(7):1218–1229, 2010.

ONO, S.; HATANAKA, T.; MIYAZAWA, S.; TSUTSUI, M. et al. Human liver microsomal diazepam metabolism using cDNA-expressed cytochrome P450s: Role of CYP2B6, 2C19 and the 3A subfamily. **Xenobiotica**, 26(11):1155–1166, 1996.

ORTEGA, V. E.; MEYERS, D. A. Pharmacogenetics: Implications of Race and Ethnicity on Defining Genetic Profiles for Personalized Medicine Victor. **J Allergy Clin Immunol**, 133(1):16–26, 2014.

ORTIZ DE MONTELLANO, P. R. **Cytochrome P450 : structure, mechanism, and biochemistry.** Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2005. 689 p. ISBN: 9780387274478.

OWEN, A.; PIRMOHAMED, M.; KHOO, S. H. et al. Pharmacogenetics of HIV therapy. **Pharmacogenetics and Genomics**, 16(10):693–703, 2006.

PAINE, M. F.; KHALIGHI, M.; FISHER, J. M. et al. Characterization of interintestinal and intrainestinal variations in human CYP3A-dependent metabolism. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, 283(3):1552–62, 1997.

PASCUSSI, J. M.; BUSSON-LE CONIAT, M.; MAUREL, P. et al. Transcriptional analysis of the orphan nuclear receptor constitutive androstane receptor (NR1I3) gene promoter: identification of a distal glucocorticoid response element. **Molecular endocrinology**, 17(1):42–55, 2003.

PAVLOS, R.; PHILLIPS, E. J. Individualization of antiretroviral therapy. **Pharmacogenomics and Personalized Medicine**, 5(1):1–17, 2011.

PEDRAL-SAMPAIO, D. B.; ALVES, C. B.; NETTO, E. M. et al. Efficacy and safety of Efavirenz in HIV patients on Rifampin for tuberculosis. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 8(3):211–216, 2004.

PHARMVAR (PHARMACOGENE VARIATION CONSORTIUM). **CYP2B6 allele nomenclature**. *PharmVar*. 2018. Disponível em: <<https://www.pharmvar.org/gene/CYP2B6>>. Acesso em: 30/abr./18.

PLANTIER, J.-C.; LEOZ, M.; DICKERSON, J. et al. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. **Nature Medicine**, 15(8):871–872, 2009.

POPE, M.; HAASE, A. T. Transmission, acute HIV-1 infection and the quest for strategies to prevent infection. **Nature Medicine**, 9(7):847–852, 2003.

PURNELL, P. R.; FOX, H. S. Efavirenz Induces Neuronal Autophagy and Mitochondrial Alterations. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, 351(2):250–258, 2014.

QUEIROZ, M. A. F.; LAURENTINO, R. V.; AMORAS, E. S. G. et al. The CYP2B6 G516T polymorphism influences CD4+ T-cell counts in HIV-positive patients receiving antiretroviral therapy in an ethnically diverse region of the Amazon. **International Journal of Infectious Diseases**, 55:4–10, 2017.

RADOMINSKA-PANDYA, A.; LITTLE, J. M.; CZERNIK, P. J. Human UDP-glucuronosyltransferase 2B7. **Current drug metabolism**, 2(3):283–98, 2001.

RAMJAN, R.; CALMY, A.; VITORIA, M. et al. Systematic review and meta-analysis: Patient and programme impact of fixed-dose combination antiretroviral therapy. **Tropical Medicine & International Health**, 19(5):501–513, 2014.

RAUNIO, H.; RAUTIO, A.; GULLSTÉN, H. et al. Polymorphisms of CYP2A6 and its practical consequences. **British Journal of Clinical Pharmacology**, 52(4):357–363, 2001.

RIBEIRO, F. A.; TUBINAMBÁS, U.; FONSECA, M. O. et al. Durability of the first combined antiretroviral regimen in patients with AIDS at a reference center in Belo

Horizonte, Brazil, from 1996 to 2005. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, 16(1):27–33, 2012.

RIDDLER, S. A.; HAUBRICH, R.; DIRIENZO, A. G. et al. Class-Sparing Regimens for Initial Treatment of HIV-1 Infection. **New England Journal of Medicine**, 358(20):2095–2106, 2008.

RIDKY, T.; LEIS, J. Development of drug resistance to HIV-1 protease inhibitors. **The Journal of biological chemistry**, 270(50):29621–3, 1995.

RIVERO, A.; MIRA, J. A.; PINEDA, J. A. Liver toxicity induced by non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 59(3):342–346, 2007.

ROBBINS, B. L.; GREENHAW, J.; CONNELLY, M. C. et al. Metabolic pathways for activation of the antiviral agent 9-(2-phosphonylmethoxyethyl)adenine in human lymphoid cells. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, 39(10):2304–8, 1995.

ROBERTSON, D. L.; ANDERSON, J. P.; BRADAC, J. A. et al. HIV-1 nomenclature proposal. **Science**, 288(5463):55–6, 2000.

RODRIGUES, M. C. O.; HERNANDEZ-ONTIVEROS, D. G.; LOUIS, M. K. et al. Neurovascular Aspects of Amyotrophic Lateral Sclerosis. **International Review of Neurobiology**, 102:91–106, 2012.

RODRÍGUEZ-NÓVOA, S.; BARREIRO, P.; JIMÉNEZ-NÁCHER, I. et al. Overview of the pharmacogenetics of HIV therapy. **The Pharmacogenomics Journal**, 6:234–245, 2006.

ROTGER, M.; COLOMBO, S.; FURRER, H. et al. Influence of CYP2B6 polymorphism on plasma and intracellular concentrations and toxicity of efavirenz and nevirapine in HIV-infected patients. **Pharmacogenetics and genomics**, 15(1):1–5, 2005.

ROTH, M. J.; SCHWARTZBERG, P. L.; GOFF, S. P. Structure of the termini of DNA intermediates in the integration of retroviral DNA: dependence on IN function and terminal DNA sequence. **Cell**, 58(1):47–54, 1989.

RUTHERFORD, G. W.; HORVATH, H. Dolutegravir plus two nucleoside reverse transcriptase inhibitors versus efavirenz plus two nucleoside reverse transcriptase

inhibitors as initial antiretroviral therapy for people with HIV: A systematic review. **PLoS ONE**, 11(10):1–13, 2016.

SCHACKMAN, B. R.; HAAS, D. W.; SANGHEE, S. et al. Cost-effectiveness of *CYP2B6* genotyping to optimize efavirenz dosing in HIV clinical practice. **Pharmacogenomics**, 16(18):2007–2018, 2015.

SCHWARZ, J. M.; COOPER, D. N.; SCHUELKE, M. et al. MutationTaster2: mutation prediction for the deep-sequencing age. **Nature Methods**, 11(10):743–748, 2014.

SCOURFIELD, A., ZHENG, J., CHINTHAPALLI, S. et al. Discontinuation of Atripla as first-line therapy in HIV-1 infected individuals. **Aids**, 26(11):1399–1401, 2012.

SHIKUMA, C. M.; YANG, Y.; GLESBY, M. J. et al. Metabolic Effects of Protease Inhibitor-sparing Antiretroviral Regimens Given as Initial Treatment of Hiv-1 Infection (aids Clinical Trials Group Study A5095). **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, 44(5):540–550, 2007.

SHIMADA, T.; YAMAZAKI, H.; MIMURA, M. et al. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, 270(1):414–23, 1994.

SHOU, M.; KORZEKWA, K. R.; KRAUSZ, K. W. et al. Specificity of cDNA-expressed human and rodent cytochrome P450s in the oxidative metabolism of 93 the potent carcinogen 7,12-dimethylbenz[α]anthracene. **Mol Carcinog**, 17:241–246, 1996.

SIMON, F.; MAUCLÈRE, P.; ROQUES, P. et al. Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. **Nature Medicine**, 4(9):1032–1037, 1998.

SPECK, R. F.; WEHRLY, K.; PLATT, E. J. et al. Selective employment of chemokine receptors as human immunodeficiency virus type 1 coreceptors determined by individual amino acids within the envelope V3 loop. **Journal of virology**, 71(9):7136–9, 1997.

STÄHLE, L.; MOBERG, L.; SVENSSON, J. O. et al. Efavirenz plasma concentrations in HIV-infected patients: inter- and intraindividual variability and clinical effects. **Therapeutic drug monitoring**, 26(3):267–70, 2004.

SU, T.; SHENG, J. J.; LIPINSKAS, T. W. et al. Expression of Cyp2a Genes and Nasal

Mucosa. **Drug Metabolism and Disposition**, 24(8):884–889, 1996.

SULLIVAN, P. F.; DALY, M. J.; O'DONOVAN, M. Genetic Architectures of Psychiatric Disorders: The Emerging Picture and Its Implications. **Nat Rev Genet**, 13(8):537–551, 2014.

SVÄRD, J.; SPIERS, J. P.; MULCAHY, F. et al. Nuclear Receptor Mediated Induction of CYP450 by Antiretrovirals: Functional Consequences of NR1I2 (PXR) Polymorphisms and Differential Prevalence in Whites and SubSaharan Africans. **J Acquir Immune Defic Syndr**, 55(5):536–549, 2010.

SWART, M.; WHITEHORN, H.; REN, Y. et al. PXR and CAR single nucleotide polymorphisms influence plasma efavirenz levels in South African HIV/AIDS patients. **BMC Medical Genetics**, 13(1):112, 2012.

TEBIT, D. M.; ARTS, E. J. Tracking a century of global expansion and evolution of HIV to drive understanding and to combat disease. **The Lancet Infectious Diseases**, 11(1): 45–56, 2011.

TELENTI, A.; CARRINGTON, M. Host factors associated with outcome from primary human immunodeficiency virus-1 infection. **Current Opinion in HIV and AIDS**, 3(1):28–35, 2008.

TORNIO, A.; BACKMAN, J. T. Cytochrome P450 in Pharmacogenetics: An Update. **Advances in Pharmacology**. 83:3-32, 2018

TOZZI, V. Pharmacogenetics of antiretrovirals. **Antiviral Research**, 85(1):190–200, 2010.

TOZZI, V.; BALESTRA, P.; SALVATORI, M. F. et al. Changes in cognition during antiretroviral therapy: Comparison of 2 different ranking systems to measure antiretroviral drug efficacy on HIV-associated neurocognitive disorders. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, 52(1):56–63, 2009.

TSUCHIYA, K.; GATANAGA, H.; TACHIKAWA, N. et al. Homozygous CYP2B 6*6 (Q172H and K262R) correlates with high plasma efavirenz concentrations in HIV-1 patients treated with standard efavirenz-containing regimens. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 319(4):322–326, 2004.

(UKBEC), U. B. E. C. **Braineac - The Brain eQTL Almanac**. 2013. Disponível em:

<<http://www.braineac.org/>>. Acesso em: 06/jun./18.

UNAIDS. **UNAIDS DATA 2017**. 2017. Disponível em: <http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/20170720_Data_book_2017_en.pdf>. Acesso em: 27/abr./18.

VALLARI, A.; BODELLE, P.; NGANSOP, C. et al. Four New HIV-1 Group N Isolates from Cameroon: Prevalence Continues to Be Low. **AIDS Research and Human Retroviruses**, 26(1):109–115, 2010.

VISSEAU, B.; DAMOND, F.; MATHERON, S. et al. HIV-2 molecular epidemiology. **Infection, Genetics and Evolution**, 46:233–240, 2016.

WAIN-HOBSON, S.; SONIGO, P.; DANOS, O. et al. Nucleotide sequence of the AIDS virus, LAV. **Cell**, 40(1):9–17, 1985.

WANG, H.; LECLUYSE, E. L. Role of Orphan Nuclear Receptors in the Regulation of Drug-Metabolising Enzymes. **Clinical Pharmacokinetics**, 42(15):1331–1357, 2003.

WANG, H.; TOMPKINS, L. M. CYP2B6: new insights into a historically overlooked cytochrome P450 isozyme. **Current drug metabolism**, 9(7):598–610, 2008.

WANG, J.; SONNERBORG, A.; RANE, A. et al. Identification of a novel specific CYP2B6 allele in Africans causing impaired metabolism of the HIV drug efavirenz. **Pharmacogenetics and genomics**, 16(3):191–8, 2006.

WARD, B.; GORSKI, J. C.; JONES, D. R. et al. The cytochrome P450 2B6 (CYP2B6) is the main catalyst of efavirenz primary and secondary metabolism: implication for HIV/AIDS therapy and utility of efavirenz as a substrate marker of CYP2B6 catalytic activity. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, 306(1):287–300, 2003.

WAZIERS, I. DE; CUGNENC, P. H.; YANG, C. S. et al. Cytochrome P 450 isoenzymes, epoxide hydrolase and glutathione transferases in rat and human hepatic and extrahepatic tissues. **The Journal of pharmacology and experimental therapeutics**, 253(1):387–94, 1990.

WEINBERG, J. B.; MATTHEWS, T. J.; CULLEN, B. R. et al. Productive human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection of nonproliferating human monocytes. **The Journal of experimental medicine**, 174(6):1477–82, 1991.

WEISS, M.; KOST, B.; RENNER-MULLER, I. et al. Efavirenz Causes Oxidative Stress, Endoplasmic Reticulum Stress, and Autophagy in Endothelial Cells. **Cardiovascular Toxicology**, 16(1):90–99, 2016.

WEISS, R. A. Special Anniversary Review: Twenty-five years of human immunodeficiency virus research: successes and challenges. **Clinical & Experimental Immunology**, 152(2):201–210, 2008.

WHITE, I. N. H.; DE MATTEIS, F.; GIBBS, A. et al. Species differences in the covalent binding of [¹⁴C]tamoxifen to liver microsomes and the forms of cytochrome P450 involved. **Biochemical Pharmacology**, 49(8):1035–1042, 1995.

WILSON, D. P.; LAW, M. G.; GRULICH, A. et al. Relation between HIV viral load and infectiousness: a model-based analysis. **The Lancet**, 372(9635):314–320, 2008.

WOLBOLD, R.; KLEIN, K.; BURK, O. et al. Sex is a major determinant of CYP3A4 expression in human liver. **Hepatology**, 38(4):978–988, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Technical update on treatment optimization: use of efavirenz during pregnancy: a public health perspective**. 2012. Disponível em: <http://www.who.int/about/licensing/copy-right_form/en/index.html>. Acesso em: 31/maio/18.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection**. 2015. Disponível em: <www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html>. Acesso em: 30/abr./18.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection: recommendations for a public health approach**. *World Health Organization*, [s.l.], p. 155 p., 2016. ISBN: 9789241549684, ISSN: 9241549688.

WYEN, C.; HENDRA, H.; SICCARDI, M. et al. Impact of CYP2B6 983T > C polymorphism on non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor plasma concentrations in HIV- infected patients. **J Antimicrob Chemother**, 61(4):914–918, 2008.

WYEN, C.; HENDRA, H.; VOGEL, M. et al. Cytochrome P450 2B6 (CYP2B6) and constitutive androstane receptor (CAR) polymorphisms are associated with early

discontinuation of efavirenz-containing regimens. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, 66(9):2092–2098, 2011.

XIE, H.-G.; WOOD, A. J. J.; KIM, R. B. et al. Genetic variability in CYP3A5 and its possible consequences. **Pharmacogenomics**, 5(3):243–272, 2004.

XU, C.; GOODZ, S.; SELLERS, E. M. et al. CYP2A6 genetic variation and potential consequences. **Advanced Drug Delivery Reviews**, 54(10):1245–1256, 2002.

YAMAKOSHI, Y.; KISHIMOTO, T.; SUGIMURA, K. et al. Human Prostate CYP3A5: Identification of a Unique 5'-Untranslated Sequence and Characterization of Purified Recombinant Protein. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, 260(3):676–681, 1999.

YANG, X.; ZHANG, B.; MOLONY, C. et al. Systematic genetic and genomic analysis of cytochrome P450 enzyme activities in human liver. **Genome Research**, 20(8):1020–1036, 2010.

YOSHIDA, R.; NAKAJIMA, M.; NISHIMURA, K. et al. Effects of polymorphism in promoter region of human CYP2A6 gene (CYP2A6*9) on expression level of messenger ribonucleic acid and enzymatic activity in vivo and in vitro. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, 74(1):69–76, 2003.

ZHANG, J.; KUEHL, P.; GREEN, E. D. et al. The human pregnane X receptor: genomic structure and identification and functional characterization of natural allelic variants. **Pharmacogenetics**, 11(7):555–72, 2001.

ZORDOKY, B. N. M.; EL-KADI, A. O. S. Role of NF-kappaB in the regulation of cytochrome P450 enzymes. **Current drug metabolism**, 10(2):164–78, 2009.

APÊNDICE A – ARTIGO “SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IN CELLULAR DRUG TRANSPORTERS ARE ASSOCIATED WITH INTOLERANCE TO ANTIRETROVIRAL THERAPY IN BRAZILIAN HIV-1 POSITIVE INDIVIDUALS



RESEARCH ARTICLE

Single Nucleotide Polymorphisms in Cellular Drug Transporters Are Associated with Intolerance to Antiretroviral Therapy in Brazilian HIV-1 Positive Individuals

Mônica Barcellos Arruda¹, Francine Campagnari², Tailah Bernardo de Almeida¹, José Carlos Couto-Fernandez³, Amilcar Tanuri¹, Cynthia Chester Cardoso^{1*}

1 Laboratório de Virologia Molecular, Departamento de Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, **2** Deoxi Biotecnologia. Araçatuba, São Paulo, Brasil, **3** Laboratório de Aids e Imunologia Molecular, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil

* cynthiac@biologia.ufrj.br



OPEN ACCESS

Citation: Arruda MB, Campagnari F, de Almeida TB, Couto-Fernandez JC, Tanuri A, Cardoso CC (2016) Single Nucleotide Polymorphisms in Cellular Drug Transporters Are Associated with Intolerance to Antiretroviral Therapy in Brazilian HIV-1 Positive Individuals. *PLoS ONE* 11(9): e0163170. doi:10.1371/journal.pone.0163170

Editor: Sanjay B. Magginnar, University of Rochester Medical Center, UNITED STATES

Received: July 11, 2016

Accepted: September 2, 2016

Published: September 20, 2016

Copyright: © 2016 Arruda et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

Funding: This work was supported by the “Brazilian Ministry of Science and Technology” [FINEP 01/2010 – contract number 03.12.0057.00]. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. Deoxi Biotecnologia provided support in the form of salaries for authors [FC], but did not have any

Abstract

Adverse reactions are the main cause of treatment discontinuation among HIV+ individuals. Genes related to drug absorption, distribution, metabolism and excretion (ADME) influence drug bioavailability and treatment response. We have investigated the association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) in 29 ADME genes and intolerance to therapy in a case-control study including 764 individuals. Results showed that 15 SNPs were associated with intolerance to nucleoside and 11 to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs and NNRTIs), and 8 to protease inhibitors (PIs) containing regimens under $\alpha = 0.05$. After Bonferroni adjustment, two associations remained statistically significant. SNP rs2712816, at *SLCO2B1* was associated to intolerance to NRTIs ($OR_{GA/AA} = 2.37$; $p = 0.0001$), while rs4148396, at *ABCC2*, conferred risk of intolerance to PIs containing regimens ($OR_{CT/TT} = 2.64$; $p = 0.00009$). Accordingly, haplotypes carrying rs2712816A and rs4148396T alleles were also associated to risk of intolerance to NRTIs and PIs, respectively. Our data reinforce the role of drug transporters in response to HIV therapy and may contribute to a future development of personalized therapies.

Introduction

The infection by HIV-1 is a pandemic condition that affects nearly 37 million people worldwide [1]. The treatment of HIV positive individuals is based on the combined antiretroviral therapy (cART), which consists on the administration of three antiretrovirals (ARVs) from at least two different classes. These classes include the nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs), non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs), protease inhibitors (PIs), fusion and entry inhibitors, and integrase inhibitors. Introduction of HAART in 1996 has led to clear health improvements to the HIV+ individuals, with reduced morbidity and increase in

additional role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript. The specific roles of this author are articulated in the 'author contributions' section.

Competing Interests: Francine Campagnari is employed by Deoxi Biotecnologia. There are no patents, products in development or marketed products to declare. This does not alter our adherence to all the PLOS ONE policies on sharing data and materials. FC has worked in the present study as part of her PhD project.

life expectancy [2]. However, the emergence of drug resistance and the development of adverse reactions to the ARVs are still of major concern since they may impair therapy effectiveness.

Adverse reactions (ARs) are one of the most important factors associated with reduced life quality among individuals undergoing antiretroviral therapy. In fact, ARs have been reported as the most common cause of treatment discontinuation and changes in cART regimen [3–6]. Gastrointestinal intolerance, anemia and hypersensitivity reactions are commonly observed since the early beginning of the treatment. The long-term use of the ARVs may also lead to metabolic disorders, including lipodystrophy and dyslipidemia, and peripheral neuropathies [5–7]. Moreover, ARs can also limit treatment effectiveness by reducing adherence [8–11] and, consequently, favoring the emergence of drug resistant viruses.

Variations in genes coding for molecules involved in drug absorption, distribution, metabolism and excretion (ADME) have been consistently associated to both short-term and long-term adverse reactions to the ARVs. The impact of such variations is clearly reflected by the interindividual variations in antiretroviral plasma concentrations after taking the same dosage. Therefore, tolerance to treatment can also be substantially variable. Although much remains unknown, there is extensive data regarding the influence of *ABCB1* variations and plasma or intracellular levels of protease inhibitors [12]. Similar results have been observed for a second ABC transporter, coded by *ABCC2*. In addition, single nucleotide polymorphisms (SNPs) and haplotypes of *CYP2B6* have been consistently associated to efavirenz clearance and also to central nervous system adverse reactions to this drug [13–15]. Moreover, atazanavir-associated hyperbilirubinemia was associated to a microsatellite at *UGT1A1* promoter [16]. Mitochondrial DNA haplogroups and variations in genes coding for inflammatory mediators and apolipoproteins have also been suggested as predictors for lipid disorders [17–19].

According to recent estimates, there are about 781,000 people living with HIV in Brazil, and 405,000 are currently undergoing treatment [20]. However, just a few studies have been conducted to describe the role of host genetics in response to cART in our population [16, 21–25]. Therefore, the prevalence of SNPs in ADME genes among Brazilian HIV positive individuals remains largely unknown.

The present study was designed to investigate the association between 346 SNPs in 29 ADME genes and intolerance to antiretroviral therapy among Brazilians. For this purpose, 764 individuals undergoing antiretroviral therapy were enrolled in a case-control study. Our data showed a clear association between *ABCC2* SNPs and treatment modification due to intolerance to protease inhibitors, while *SLCO2B1* genetic variations increased the risk of intolerance to NRTIs.

Methods

Ethics Statement

The present study was approved by Fiocruz Institutional Review Board (IRB) and a written informed consent was obtained from all subjects. All analyses were conducted according to the principles expressed in the Declaration of Helsinki.

Subjects and study design. A total of 764 HIV-1+ individuals were enrolled in this study. All samples were obtained from the biorepository of the AIDS and Molecular Immunology Laboratory at Fiocruz, Rio de Janeiro, Brazil. This laboratory is a part of the Brazilian Network for HIV-1 Genotyping (RENAGENO), which was implemented in 2001 with the aim of providing free HIV genotyping tests for patients in HAART failure [26]. Patients from both genders, born in Rio de Janeiro and with a minimum age of 18 years old were considered eligible. A patient was included in the study if he/she had: (1) a complete history of cART schemes since first line therapy available in the file, (2) *buffy coat* samples available for DNA extraction.

Patients under treatment for hepatitis or tuberculosis and women who exhibited adverse reactions during pregnancy were excluded from the study. The patients who developed adverse reactions to any antiretroviral were classified as cases ($N = 359$), while the control group ($N = 405$) included patients to whom the treatment was safe. Considering a minor allele frequency of 0.05 and $\alpha = 0.0001$ (Bonferroni adjustment for 346 candidate SNPs), the minimum OR value to reach 80% of power with this sample size was 2 under an additive model.

A subject was not included in the control group if he/she has not been treated for at least 6 months. A total of 195 controls (48%) were still undergoing first-line therapy (first scheme) at the moment of data collection, with a medium time of 3.9 ± 2 years using the same drug combination. For those who had already changed treatment, the medium time of permanence in each scheme was 2.87 ± 1.87 years.

Clinical description of specific adverse reactions was available for a limited number of subjects ($N = 65$ for cases of intolerance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors, 26 for non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, and 32 for protease inhibitors). Therefore, the outcome "intolerance" was used for case definition. Among the cases of intolerance to NRTIs, 31 developed anemia attributed to zidovudine and 10 exhibited lipodistrophy due to stavudine, which was also associated to peripheral neuropathy in 9 individuals. Fifteen individuals developed dyslipidemia and the remaining 8 cases exhibited rash, gastrointestinal adverse effects and lactic acidosis ($N = 3, 3$ and 2 , respectively). Among the subjects who developed intolerance to NNRTIs, the most prevalent adverse reaction was cutaneous rash after nevirapine use ($N = 16$), followed by neuropsychiatric disorders in response to efavirenz ($N = 7$) and gastrointestinal disorders ($N = 3$). In the group of intolerance to protease inhibitors, gastrointestinal adverse reactions including diarrhea and nausea due to lopinavir/ritonavir use were the most prevalent ($N = 11$), followed by nephrolithiasis due to indinavir ($N = 9$). Lipodistrophy and dyslipidaemia were observed in 5 and 3 cases, respectively. The remaining 4 cases exhibited jaundice due to atazanavir and cutaneous rash ($N = 2$, each).

First of all, an overall analysis was developed including all cases and controls ("All ARVs"), regardless the drug class. Afterwards, three different case-control studies were conducted to characterize association between pharmacogenetic markers and intolerance to: (1) nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs), (2) non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) or (3) protease inhibitors (PIs). For this analysis, all individuals exhibiting adverse reactions to drugs belonging to the same class were grouped in a single case-control.

Genetic ancestry was determined using a panel of 28 ancestry informative SNPs previously validated for Brazilian population [27]. Distribution of each gender and proportions of European and African ancestries are represented in Table 1.

Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) Selection

Selection of candidate genes and SNPs was based mainly on literature search, as a way to replicate previous associations. We have also searched for additional SNPs in coding and regulatory regions of all candidate genes using the SNPper tool. In order to increase gene coverage, tag SNPs were selected from HapMap data bank using the following parameters: minor allele frequency of 0.05 in CEU (Utah residents with Northern and Western European ancestry) or YRI (Yoruba in Ibadan, Nigeria) populations and r^2 cutoff of 0.8. Following this strategy, 346 SNPs in 29 candidate genes were selected (S1 Table).

DNA Extraction and SNP Genotyping

Genomic DNA was obtained from *buffy coat* samples using the QIAamp[®] DNA Blood Mini Kit (QIAGEN) according to manufacturer's instructions. A total of 345 SNPs was genotyped

Table 1. General characteristics of the subjects of the entire sample and according to the antiretroviral classes.

	ALL ARVs		NRTIs		NNRTIs		PIs	
	Cases	Controls	Cases	Controls	Cases	Controls	Cases	Controls
N	359	405	141	402	99	297	115	203
Gender								
Male	222 (0.62)	259 (0.64)	97 (0.69)	257 (0.64)	62 (0.63)	186 (0.63)	70 (0.61)	138 (0.68)
Female	137 (0.38)	146 (0.36)	44 (0.31)	145 (0.36)	37 (0.37)	111 (0.37)	45 (0.39)	65 (0.32)
Genetic ancestry^a								
African	0.345 ± 0.242	0.397 ± 0.249	0.344 ± 0.231	0.397 ± 0.248	0.356 ± 0.242	0.395 ± 0.253	0.326 ± 0.245	0.381 ± 0.233
European	0.655 ± 0.241	0.602 ± 0.249	0.656 ± 0.231	0.603 ± 0.248	0.644 ± 0.253	0.605 ± 0.241	0.674 ± 0.233	0.619 ± 0.245

Data are represented as N (frequency) for gender and mean ± standard deviation for proportions of African and European genetic ancestries.

ARVs = antiretrovirals. NRTIs = nucleoside reverse transcriptase inhibitors; NNRTIs = non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors; PIs = protease inhibitors.

^a p < 0.05 for comparisons between cases and controls for ALL ARVs and NRTIs group.

doi:10.1371/journal.pone.0163170.t001

using Illumina Golden Gate[®] assays (Illumina, San Diego, CA, USA) according to the manufacturer’s instructions. Briefly, the assay includes two allele-specific oligos (ASO) and a locus-specific oligo (LSO) that hybridizes several bases downstream from the SNP site. The three oligonucleotide sequences contain regions of complementarity with universal PCR primer sites. DNA samples (250 ng) were activated and hybridized to the assay oligonucleotides designed for each SNP locus. Following hybridization, several wash steps were performed before base extension and ligation of the ASO and LSO primers. Amplification of the full length products was performed using Cy3- and Cy5-labeled universal PCR primers and Titanium[®] DNA polymerase (CloneTech, Mountain View, CA, USA). Finally, Golden Gate[®] assay products were hybridized to the BeadChip and the fluorescence was analyzed using an iScan instrument (Illumina, San Diego, CA, USA). Genotype calling was performed using the software Genome Studio (Illumina, San Diego, CA, USA). The SNP rs3745274, located at *CYP2B6* gene, did not pass Illumina criteria for assay design and, therefore, was genotyped using SNaPshot[®] analysis (Thermo Scientific, Massachusetts, USA). Briefly, PCR amplification was performed using QIAGEN Multiplex PCR kit (QIAGEN, Hilden, Germany) and specific forward (5’ -GATTGAACACCTACTCTGCCAGCC-3’) and reverse (5’ -AGACGATGGAGCAGATGATGTTGGC-3’) primers at 0.2 μM. PCR products were cleaned using 3U of FastAP (Thermo Scientific, Massachusetts, USA) and 1U of Exonuclease I (Affimetrix, California, USA). SNaPshot reactions were performed using the SNaPshot[™] Multiplex kit (Thermo Scientific, Massachusetts, USA) according to manufacturer’s instructions and the specific primer for rs3745274 (5’ -CCCTCATGGACCCACCTTCTCTTCCA-3’) at 2 μM. SNaPshot products were treated with FastAP 1U and submitted to capillary electrophoresis on ABI3130 Genetic Analyzer (Thermo Scientific, Massachusetts, USA) using the standard fragment analysis protocol. Genotyping was performed using GeneMapper software, version 4.0 (Thermo Scientific, Massachusetts, USA).”

Statistical Analyses

Deviations from Hardy-Weiberg Equilibrium (HWE) were assessed by χ^2 tests. Comparisons between cases and controls were performed using unconditional logistic regression models controlling for potential confounders such as gender, age at diagnosis and proportions of European and African ancestries. A stepwise logistic regression analysis was performed to select covariates. All SNPs were analyzed under dominant and codominant models. A Bonferroni

adjustment was applied to avoid type I error. A Cochran–Armitage trend test was conducted to describe possible allele dose effects. Pairwise linkage disequilibrium (LD) patterns were determined using the r^2 statistics and a cutoff of $r^2 \geq 0.8$ to define “tags”. SNPs with nominal p-values < 0.05 in both models (dominant and codominant) were included in haplotype analyses. Haplotype frequencies were estimated by maximum likelihood and compared using the same logistic regression models applied for isolated SNPs. All analyses were performed using the R for windows, version 2.14.1, with the packages “genetics”, “gap”, “SNPassoc”, “haplo.stats” and “coin”.

Results

SNPs in ADME Genes Are Associated with Intolerance to Different cART Regimens

A total of 346 SNPs were genotyped in our study. After quality control, 76 SNPs were excluded from analysis due to HWE deviations ($N = 38$) or because they were monomorphic ($N = 38$) in our control sample. The minor allele frequencies are shown for each SNP in [S1 Table](#). The remaining 270 candidate SNPs were analyzed separately using logistic regression models adjusted for sex and genetic ancestry. First of all, patients were compared according to the development of adverse reactions to any antiretroviral (All ARVs), and a total of 12 SNPs were significantly associated to this outcome in both multivariate models (dominant and codominant adjusted for gender and genetic ancestry) under a 0.05 significance level ([S2 Table](#)). When statistical analyses were stratified according to the ARVs classes, 15 SNPs were associated to adverse reactions to NRTIs, 11 to NNRTIs and 8 to PIs ($p < 0.05$ in dominant and codominant models; [S2 Table](#)). After Bonferroni adjustment for multiple comparisons (270 SNPs; $\alpha = 0.0002$), two associations remained statistically significant ([S2 Table](#), [Tables 2 and 3](#)). The SNP rs2712816 (G>A) at *SLCO2B1* gene was associated to increased risk of adverse reactions to NRTIs (OR = 2.37; $p = 0.0001$ for GA/AA genotypes after adjustment for gender and genetic ancestry; [S2 Table](#)), while rs4148396 (C>T), located at *ABCC2*, conferred risk of intolerance to PIs (OR = 2.64; $p = 0.00009$ for CT/TT genotypes; [S2 Table](#)). OR values remained virtually the same when patients who developed adverse reactions to both NRTIs and PIs ($N = 25$) were removed from analysis (data not shown).

Association between *SLCO2B1* and Intolerance to Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors

In addition to rs2712816, three SNPs at *SLCO2B1* (rs12422149, rs1676885 and rs949069) were associated to adverse reactions to NRTIs at a 0.05 significance level ([S2 Table](#)). SNP rs1676885 was associated to increased risk of intolerance (adjusted OR = 1.55 for AG/GG), while results obtained for rs949069 (adjusted OR = 0.57 for GA/AA) and rs12422149 (adjusted OR = 0.5 for GA/AA) suggested a protective effect. In all cases, the results obtained suggested an allele-dose effect, with more prominent effects observed among homozygotes for the minor allele ([Table 2](#)). This trend was confirmed by a Cochran-Armitage test, which resulted in adjusted p-values of 0.0005 for rs2712816, 0.003 for rs949069 and 0.01 for rs12422149 and rs1676885.

Results of linkage disequilibrium (LD) analyses have showed low association between the four markers tested ($r^2 < 0.8$). Therefore, all SNPs were included in haplotype analysis. Comparisons of haplotype frequencies in cases and controls corroborated the data obtained when SNPs were analyzed separately ([Table 2](#)). Indeed, both haplotypes carrying rs2712816A allele increased the susceptibility to adverse reactions to NRTIs when compared to the baseline

Table 2. Association between *SLCO2B1* gene and intolerance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors.

Genotype/Haplotype	Controls ^a	Cases ^a	OR (95% CI)	OR (95% CI) ^b
SNP rs2712816				
GG	171 (0.43)	32 (0.23)	Reference	Reference
GA	178 (0.44)	80 (0.57)	2.40 (1.52–3.81)	2.29 (1.43–3.65)
AA	52 (0.13)	29 (0.20)	2.98 (1.65–5.38)	2.69 (1.46–4.95)
	401	141	p = 0.00006 ^c	p = 0.0004 ^c
SNP rs949069				
GG	146 (0.36)	73 (0.52)	Reference	Reference
GA	188 (0.47)	57 (0.40)	0.61 (0.40–0.91)	0.65 (0.43–0.98)
AA	67 (0.17)	11 (0.08)	0.33 (0.16–0.66)	0.34 (0.17–0.69)
	401	141	p = 0.0013 ^c	p = 0.0032 ^c
SNP rs12422149				
GG	296 (0.74)	119 (0.84)	Reference	Reference
GA	93 (0.23)	21 (0.14)	0.56 (0.33–0.94)	0.55 (0.33–0.93)
AA	13 (0.03)	1 (0.01)	0.19 (0.02–1.48)	0.18 (0.02–1.40)
	402	141	p = 0.0143 ^c	p = 0.0104 ^c
SNP rs1676885				
AA	298 (0.74)	88 (0.63)	Reference	Reference
AG	93 (0.23)	41 (0.29)	1.49 (0.96–2.31)	1.35 (0.86–2.12)
GG	11 (0.03)	11 (0.08)	3.39 (1.42–8.07)	3.19 (1.33–7.65)
	402	140	p = 0.0096 ^c	p = 0.0251 ^c
Haplotypes rs2712816/rs949069/ rs12422149/rs1676885				
G/G/G/A	0.24	0.21	Reference	Reference
A/G/G/A	0.23	0.30	1.61 (1.05–2.47; p = 0.03)	1.39 (1.01–1.93; p = 0.04)
A/G/G/G	0.11	0.18	1.81 (1.13–2.88; p = 0.01)	1.49 (1.02–2.15; p = 0.04)
G/A/A/A	0.13	0.07	0.65 (0.37–1.15; p = 0.14)	0.95 (0.64–1.38; p = 0.77)
G/A/G/A	0.24	0.19	0.96 (0.61–1.51; p = 0.84)	1.19 (0.85–1.64; p = 0.31)
G/G/G/G	0.01	0.03	3.46 (0.85–14.04; p = 0.08)	2.45 (0.61–9.83; p = 0.21)

OR = odds ratio; CI = confidence interval.

^a Results are shown as N (frequency) for SNP genotypes and frequencies estimated by maximum likelihood for haplotypes;

^b results adjusted for gender and genetic ancestry;

^c overall p-value for codominant model (2 degrees of freedom).

doi:10.1371/journal.pone.0163170.t002

rs2712816G/rs949069G/rs12422149G/rs1676885A (adjusted OR = 1.39 for A/G/G/A and 1.49 for A/G/G/G; p = 0.04 for both haplotypes).

Association between *ABCC2* and Intolerance to Protease Inhibitors

Besides rs4148396, four other SNPs at *ABCC2* (rs2073337, rs2804398, rs2804400, rs3740066) were associated with intolerance to PIs (p < 0.05; S2 Table, Table 3). From these, rs2804398 and rs2804400 were in almost perfect linkage disequilibrium with rs4148396 (r² > 0.9) while rs2073337 was in moderate/strong LD (r² = 0.66). Therefore, rs4148396 was defined as a tag for the entire bin. SNP rs3740066 was also included in the following analyses, since the low LD patterns with rs4148396 (r² = 0.37) indicate that this variation belongs to an independent bin. The results obtained from both SNPs indicated an association with increased risk of intolerance to PIs containing regimens (adjusted OR = 2.64 for rs4148396 T carriers and 1.82 for rs3740066 A carriers; S2 Table). Moreover, the OR values suggested that the homozygotes were at higher risk of developing intolerance to PIs as compared to the heterozygotes (3.68 vs 2.47 for rs4148396

Table 3. Association between *ABCC2* gene and intolerance to protease inhibitors.

Genotype/Haplotypes	Controls ^a	Cases ^a	OR (95% CI; p)	OR (95% CI; p) ^b
SNP rs4148396				
CC	110(54.2)	36(31.3)	Reference	Reference
CT	78(38.4)	62(53.9)	2.43 (1.47–4.02)	2.47 (1.47–4.13)
TT	15(7.4)	17(14.8)	3.46 (1.57–7.63)	3.68 (1.62–8.35)
	203	115	p = 0.0003 ^c	p = 0.0003 ^c
SNP rs3740066				
GG	115 (0.57)	48 (0.42)	Reference	Reference
GA	74 (0.36)	54 (0.47)	1.75 (1.08–2.84)	1.74 (1.06–2.87)
AA	14 (0.07)	13 (0.11)	2.22 (0.97–5.08)	2.27 (0.96–5.33)
	203	115	p = 0.032 ^c	p = 0.04 ^c
Haplotypes rs4148396/ rs3740066				
C/G	0.67274	0.54838	Reference	Reference
C/A	0.06125	0.03422	0.71 (0.30–1.69; p = 0.44)	0.78 (0.32–1.88; p = 0.58)
T/A	0.18998	0.31360	2.06 (1.38–3.06; p = 0.0004)	2.09 (1.37–3.17; p = 0.0006)
T/G	0.07603	0.10379	1.75 (0.94–3.28; p = 0.08)	1.92 (1.02–2.83; p = 0.0442)

OR = odds ratio; CI = confidence interval.

^a Results are shown as N (frequency) for SNP genotypes and frequencies estimated by maximum likelihood for haplotypes;

^b results adjusted for gender and genetic ancestry;

^c overall p-value for codominant model (2 degrees of freedom).

doi:10.1371/journal.pone.0163170.t003

and 2.27 vs 1.74 for rs3740066; Table 3), suggesting an allele dose effect. This trend was confirmed by a Cochran-Armitage trend test (p = 0.0002 for rs4148396 and 0.03 for rs3740066).

Next, rs4148396 and rs3740066 alleles were combined in haplotypes. After analysis, the combination of rs4148396T/rs3740066A was associated to increased risk of adverse reactions to PIs (adjusted OR = 2.09; p = 0.0006), as compared to the baseline rs4148396C/rs3740066G, reinforcing the risk effect observed for rs4148396T and rs3740066A in single SNP analysis (Table 3).

Discussion

In this study, we have investigated the association between SNPs in ADME genes and intolerance to cART regimens. Our results showed a consistent association between *SLCO2B1* gene variations and intolerance to NRTIs, while *ABCC2* polymorphisms conferred risk of intolerance to protease inhibitors containing regimens.

To date, there is no data regarding NRTIs transport through OATP transporters. In fact, OATP1B1, coded by *SLCO1B1*, plays a role in protease inhibitors uptake [28] and polymorphisms in this gene are associated to variations in plasma concentrations of these drugs [23]. Indeed, the polymorphism rs10444413 was associated with intolerance to PIs in our cohort considering a 0.05 significance level (S2 Table).

The organic anion transporter polypeptide OATP2B1, coded by *SLCO2B1*, is expressed in hepatocytes [29] and apical membrane of intestinal epithelial cells [30], among other tissues. PIs were also shown to inhibit OATP2B1 activity, suggesting that they might be a target for this transporter [31]. Several reports have shown a clear role for OATP2B1 in absorption of statins and steroid hormones, especially androgens, as well as its precursors. Accordingly, SNPs at *SLCO2B1* may predict response to these compounds [32,33]. The missense variation rs12422149 has been consistently associated to worse prognosis for prostate cancer after

androgen-deprivation therapy [33]. Differential patterns of hormones absorption might indirectly influence susceptibility to lipid disorders, which are commonly observed in response to ARVs such as stavudine. In addition, since statins are commonly used in the management of lipid disorders associated to HIV infection and ARVs use [34], SNPs at *SLCO2B1* may also limit the effectiveness of this treatment in individuals undergoing antiretroviral therapy. Further analyses are required to test these hypotheses and define the role of OATP2B1 in response to antiretroviral therapy.

Beyond the classical candidate *ABCB1* (P-glycoprotein), the ABC transporters, or multi-drug resistance-associated proteins (MRP), also promote the efflux of many drugs from cells. The MRP2 transporter, encoded by *ABCC2*, has been consistently associated to the efflux of protease inhibitors from hepatocytes and peripheral blood mononuclear cells [35–38]. In the present study, the most prominent effect was observed for the SNP rs4148396, which was associated with intolerance to PIs even after Bonferroni adjustment ($OR_{CT/TT} = 2.64$; $p = 0.00009$; Table 3). This SNP, as well as rs3740066 were previously associated to neurotoxicity after treatment with the adjuvant FOLFOX4 in patients with colorectal cancer [39]. Besides *ABCC2*, SNPs in other two ABC transporters were also associated to intolerance to PIs (*ABCC4* and *ABCG2*, S2 Table), reinforcing the role of efflux transporters in adverse reactions to this class of drugs [12].

SNPs at *ABCC2* have been consistently associated to tenofovir-induced tubulopathy [40,41]. Moreover, this transporter is also inhibited by NRTIs and NNRTIs [42], which may increase the risk of drug-drug interactions in patients undergoing cART. Notably, SNPs in this gene were also associated to intolerance in comparisons including all antiretrovirals at a 0.05 significance level (S2 Table).

We were unable to detect classical associations such as *CYP2B6* and response to efavirenz and *ABCB1* SNPs and response to protease inhibitors. A limitation of our study was the inability to perform case-control analyses specific for each drug. In this case, for example, the inclusion of individuals with intolerance to nevirapine may have diluted the effect of *CYP2B6* SNPs, which is more prominent for efavirenz response. Another possibility is the outcome under investigation, which was intolerance instead of a clearly defined adverse reaction. As a consequence, we would have limited power to detect subtle or specific effects. More specifically, a reduced number of individuals exhibiting central nervous system reactions to efavirenz among the cases of intolerance to NNRTIs might also explain the lack of association with *CYP2B6* gene. Nevertheless, we cannot rule out the possibility that these effects are not valid in our population. The effect of *CYP2B6* and *ABCB1* SNPs are dependent on genetic background [43]. In this study, the genetic background was determined using a panel of ancestry informative SNPs previously validated for the Brazilian population [27], and no associations were found even after adjustment for genetic ancestry.

In Brazil, the treatment is provided to all HIV+ individuals free of charge and a National Network for HIV Genotyping was implemented to detect HIV resistance and avoid virologic failure [26]. However, just a few studies were conducted to determine the role of host genetics in treatment response. The number of people undergoing cART is expected to increase in the next few years due to new policies that recommend starting treatment at the time of diagnosis to prevent transmission. In addition, the increase in life expectancy of HIV+ individuals will also increase the possibility of drug-drug interactions due to polypharmacy. In this scenario, it is crucial to determine the distribution of ADME markers in our population.

To our knowledge, this is the largest study conducted to describe the role of ADME genes in response to antiretroviral therapy among Brazilians until today, considering the number of candidate genes and polymorphisms. In the future, this information may help to define a panel

of markers that may be used along with clinical follow up and help clinicians to manage the different profiles of response to cART using personalized regimens.

Supporting Information

S1 Table. Candidate genes and SNPs selected for case-control analysis.

(XLSX)

S2 Table. Results of statistically significant associations between candidate SNPs and intolerance to the different antiretroviral classes.

(DOCX)

Acknowledgments

We would like to thank Diana Mariani and Lidia Boulosa for technical assistance.

Author Contributions

Conceptualization: MBA FC AT CCC.

Data curation: MBA CCC.

Formal analysis: MBA TBA CCC.

Funding acquisition: FC AT CCC.

Methodology: MBA FC TBA JCCF CCC.

Project administration: MBA FC CCC.

Resources: FC JCCF AT CCC.

Supervision: MBA AT CCC.

Visualization: CCC.

Writing – original draft: MBA TBA CCC.

Writing – review & editing: FC AT JCCF.

References

1. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). AIDS by the numbers. Jc2571/1/E [Internet]. 2015;1–11. Available: <http://search.unaids.org>.
2. Mocroft A, Ledergerber B, Katlama C, Kirk O, Reiss P, D'Arminio Monforte A, et al. Decline in the AIDS and death rates in the EuroSIDA study: An observational study. *Lancet*. 2003; 362(9377):22–9. PMID: [12853195](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12853195/)
3. d'Arminio Monforte A, Lepri AC, Rezza G, Pezzotti P, Antinori A, Phillips AN, et al. Insights into the reasons for discontinuation of the first highly active antiretroviral therapy (HAART) regimen in a cohort of antiretroviral naïve patients. I.CO.N.A. Study Group. Italian Cohort of Antiretroviral-Naïve Patients. *Aids*. 2000; 14(5):499–507. PMID: [10780712](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10780712/)
4. Mocroft A, Youle M, Moore A, Sabin CA, Madge S, Lepri AC, et al. Reasons for modification and discontinuation of antiretrovirals: results from a single treatment centre. *Aids*. 2001; 15(2):185–94. PMID: [11216926](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11216926/)
5. Cardoso SW, Grinsztejn B, Velasque L, Veloso VG, Luz PM, Friedman RK, et al. Incidence of modifying or discontinuing first HAART regimen and its determinants in a cohort of HIV-infected patients from Rio de Janeiro, Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2010; 26(8):865–74. doi: [10.1089/aid.2009.0274](https://doi.org/10.1089/aid.2009.0274) PMID: [20672997](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20672997/)

6. Ribeiro FA, Tupinambás U, Fonseca MO, Greco DB. Durability of the first combined antiretroviral regimen in patients with AIDS at a reference center in Belo Horizonte, Brazil, from 1996 to 2005. *Brazilian J Infect Dis*. 2012; 16(1):27–33.
7. Haubrich RH, Riddler SA, Dirienzo AG, Komarow L, Haas DW, Mellors JW, et al. Metabolic Outcomes in a Randomized Trial of Nucleoside, Nonnucleoside and Protease Inhibitor-Sparing Regimens for Initial HIV Treatment. *Aids*. 2009; 23(9):1109–18. doi: [10.1097/QAD.0b013e32832b4377](https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e32832b4377) PMID: [19417580](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19417580/)
8. Ammassari A, Murri R, Pezzotti P, Trotta MP, Ravasio L, De Longis P, et al. Self-reported symptoms and medication side-effects influence adherence to highly active antiretroviral therapy in persons with HIV infection. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndrome*. 2001. p. 445–9.
9. Guimarães MDC, Rocha GM, Campos LN, de Freitas FMT, Gualberto FAS, Teixeira R d' AR, et al. Difficulties reported by HIV-infected patients using antiretroviral therapy in Brazil. *Clinics (Sao Paulo)*. 2008; 63(2):165–72.
10. Pádua C a M De, César CC, Bonolo PF, Acurcio F a, Guimarães MDC. Self-reported adverse reactions among patients initiating antiretroviral therapy in Brazil. *Brazilian J Infect Dis*. 2007; 11(1):20–6.
11. Bonolo P de F, Cesar CC, Acurcio FA, Ceccato M das GB, de Padua CAM, Alvares J, et al. Non-adherence among patients initiating antiretroviral therapy: a challenge for health professionals in Brazil. *AIDS*. 2005; 19 Suppl 4:S5–13. PMID: [16249654](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16249654/)
12. Michaud V, Bar-magen T, Turgeon J, Flockhart D, Desta Z, Wainberg MA. The Dual Role of Pharmacogenetics in HIV Treatment : Mutations and Polymorphisms Regulating Antiretroviral Drug Resistance and Disposition. 2012; 64(3):803–33.
13. Haas DW, Ribaldo HJ, Kim RB, Tierney C, Wilkinson GR, Gulick RM, et al. Pharmacogenetics of efavirenz and central nervous system side effects: an Adult AIDS Clinical Trials Group study. *Aids*. 2004; 18(18):2391–400. PMID: [15622315](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15622315/)
14. Haas DW, Smeaton LM, Shafer RW, Robbins GK, Morse GD, Labbe L, et al. Pharmacogenetics of long-term responses to antiretroviral regimens containing Efavirenz and/or Nelfinavir: an Adult Aids Clinical Trials Group Study. *J Infect Dis [Internet]*. 2005; 192(11):1931–42. PMID: [16267764](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16267764/)
15. Ribaldo HJ, Haas DW, Tierney C, Kim RB, Wilkinson GR, Gulick RM, et al. Pharmacogenetics of plasma efavirenz exposure after treatment discontinuation: an Adult AIDS Clinical Trials Group Study. *Clin Infect Dis*. 2006; 42(December 2005):401–7.
16. Rodríguez-Nóvoa S, Martín-Carbonero L, Barreiro P, González-Pardo G, Jiménez-Nácher I, González-Lahoz J, et al. Genetic factors influencing atazanavir plasma concentrations and the risk of severe hyperbilirubinemia. *AIDS*. 2007; 21(1):41–6. PMID: [17148966](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17148966/)
17. Tarr PE, Taffé P, Bleiber G, Furrer H, Rotger M, Martinez R, et al. Modeling the influence of APOC3, APOE, and TNF polymorphisms on the risk of antiretroviral therapy-associated lipid disorders. *J Infect Dis*. 2005; 191(9):1419–26. PMID: [15809899](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15809899/)
18. Hulgan T, Tebas P, Canter J a, Mulligan K, Haas DW, Dubé M, et al. Hemochromatosis gene polymorphisms, mitochondrial haplogroups, and peripheral lipodystrophy during antiretroviral therapy. *J Infect Dis*. 2008; 197(6):858–66. doi: [10.1086/528697](https://doi.org/10.1086/528697) PMID: [18419350](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18419350/)
19. Rotger M, Bayard C, Taffé P, Martinez R, Cavassini M, Bernasconi E, et al. Contribution of genome-wide significant single-nucleotide polymorphisms and antiretroviral therapy to dyslipidemia in HIV-infected individuals: A longitudinal study. *Circ Cardiovasc Genet*. 2009; 2(6):621–8. doi: [10.1161/CIRCGENETICS.109.874412](https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.109.874412) PMID: [20031643](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20031643/)
20. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico HIV/AIDS. *Bol Epidemiológico HIV/AIDS*. 2015;1–100.
21. Turatti L, Sprinz E, Lazzaretti RK, Kuhmmer R, Agnes G, Silveira JM, et al. Short communication: UGT1A1*28 variant allele is a predictor of severe hyperbilirubinemia in HIV-infected patients on HAART in southern Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2012; 28(9):1015–8. doi: [10.1089/AID.2011.0261](https://doi.org/10.1089/AID.2011.0261) PMID: [22050734](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22050734/)
22. Estrela RDC, Ribeiro FS, Barroso PF, Tuyama M, Gregório SP, Dias-Neto E, et al. ABCB1 polymorphisms and the concentrations of lopinavir and ritonavir in blood, semen and saliva of HIV-infected men under antiretroviral therapy. *Pharmacogenomics*. 2009; 10(2):311–8. doi: [10.2217/14622416.10.2.311](https://doi.org/10.2217/14622416.10.2.311) PMID: [19207033](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19207033/)
23. Kohlrausch FB, De Cássia Estrela R, Barroso PF, Suarez-Kurtz G. The impact of SLCO1B1 polymorphisms on the plasma concentration of lopinavir and ritonavir in HIV-infected men. *Br J Clin Pharmacol*. 2010; 69(1):95–8. doi: [10.1111/j.1365-2125.2009.03551.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2009.03551.x) PMID: [20078617](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20078617/)
24. Lazzaretti RK, Gasparotto AS, Sassi MGDM, Polanczyk C a., Kuhmmer R, Silveira JM, et al. Genetic markers associated to dyslipidemia in HIV-infected individuals on HAART. *Sci World J*. 2013;2013.
25. Coelho AVC, Silva SPS, de Alencar LC a, Stocco G, Crovella S, Brandão L a C, et al. ABCB1 and ABCC1 variants associated with virological failure of first-line protease inhibitors antiretroviral

- regimens in Northeast Brazil patients. *J Clin Pharmacol*. 2013; 53(12):1286–93. doi: [10.1002/jcph.165](https://doi.org/10.1002/jcph.165) PMID: [23996099](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23996099/)
26. Couto-Fernandez JC, Silva-de-Jesus C, Veloso VG, Rachid M, Gracie RSG, Chequer-Fernandez SL, et al. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genotyping in Rio de Janeiro, Brazil: assessing subtype and drug-resistance associated mutations in HIV-1 infected individuals failing highly active antiretroviral therapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005; 100(1):73–8. PMID: [15867968](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15867968/)
 27. Lins TC, Vieira RG, Abreu BS, Grattapaglia D, Pereira RW. Genetic composition of Brazilian population samples based on a set of twenty eight ancestry informative SNPs. *Am J Hum Biol*. 2010; 22(2):187–92. doi: [10.1002/ajhb.20976](https://doi.org/10.1002/ajhb.20976) PMID: [19639555](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19639555/)
 28. Hartkoorn RC, Kwan WS, Shallcross V, Chaikan A, Liptrott N, Egan D, et al. HIV protease inhibitors are substrates for OATP1A2, OATP1B1 and OATP1B3 and lopinavir plasma concentrations are influenced by SLCO1B1 polymorphisms. *Pharmacogenet Genomics*. 2010; 20(2):112–20. doi: [10.1097/FPC.0b013e328335b02d](https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e328335b02d) PMID: [20051929](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20051929/)
 29. Kullak-Ublick G a, Ismail MG, Stieger B, Landmann L, Huber R, Pizzagalli F, et al. Organic anion-transporting polypeptide B (OATP-B) and its functional comparison with three other OATPs of human liver. *Gastroenterology*. 2001; 120(2):525–33. PMID: [11159893](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11159893/)
 30. Kobayashi D, Nozawa T, Imai K, Nezu J, Tsuji A, Tamai I. Involvement of human organic anion transporting polypeptide OATP-B (SLC21A9) in pH-dependent transport across intestinal apical membrane. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003; 306(2):703–8. PMID: [12724351](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12724351/)
 31. Kis O, Zastre J a, Ramaswamy M, Bendayan R. pH Dependence of Organic Anion-Transporting Polypeptide 2B1 in Caco-2 Cells : Potential Role in Antiretroviral Drug Oral Bioavailability and Drug–Drug Interactions. *J Pharmacol Exp Ther*. 2010; 334(3):1009–22. doi: [10.1124/jpet.110.166314](https://doi.org/10.1124/jpet.110.166314) PMID: [20507927](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20507927/)
 32. Tsamandouras N, Dickinson G, Guo Y, Hall S, Rostami-Hodjegan A, Galetin A, et al. Identification of the effect of multiple polymorphisms on the pharmacokinetics of simvastatin and simvastatin acid using a population-modeling approach. *Clin Pharmacol Ther*. 2014; 96(1):90–100. doi: [10.1038/clpt.2014.55](https://doi.org/10.1038/clpt.2014.55) PMID: [24598718](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24598718/)
 33. Yang M, Xie W, Mostaghel E, Nakabayashi M, Werner L, Sun T, et al. SLCO2B1 and SLCO1B3 may determine time to progression for patients receiving androgen deprivation therapy for prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2011; 29(18):2565–73. doi: [10.1200/JCO.2010.31.2405](https://doi.org/10.1200/JCO.2010.31.2405) PMID: [21606417](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21606417/)
 34. Saves M, Raffi F, Capeau J, Rozenbaum W, Ragnaud J-M, Perronne C, et al. Factors related to lipodystrophy and metabolic alterations in patients with human immunodeficiency virus infection receiving highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*. 2002; 34(10):1396–405. PMID: [11981737](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11981737/)
 35. Williams GC, Liu A, Knipp G, Sinko PJ. Direct evidence that saquinavir is transported by multidrug resistance-associated protein (MRP1) and canalicular multispecific organic anion transporter (MRP2). *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46(11):3456–62. PMID: [12384350](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12384350/)
 36. Janneh O, Owen A, Chandler B, Hartkoorn RC, Hart CA, Bray PG, et al. Modulation of the intracellular accumulation of saquinavir in peripheral blood mononuclear cells by inhibitors of MRP1, MRP2, P-gp and BCRP. *Aids*. 2005; 19(18):2097–102. PMID: [16284458](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16284458/)
 37. Agarwal S, Pal D, Mitra AK. Both P-gp and MRP2 mediate transport of Lopinavir, a protease inhibitor. *Int J Pharm*. 2007; 339(1–2):139–47. PMID: [17451894](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17451894/)
 38. Lubomirov R, di Iulio J, Fayet A, Colombo S, Martinez R, Marzolini C, et al. ADME pharmacogenetics: investigation of the pharmacokinetics of the antiretroviral agent lopinavir coformulated with ritonavir. *Pharmacogenet Genomics*. 2010; 20(4):217–30. doi: [10.1097/FPC.0b013e328336e4e4](https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e328336e4e4) PMID: [20139798](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20139798/)
 39. Cecchin E, D’Andrea M, Lonardi S, Zanusso C, Pella N, Errante D, et al. A prospective validation pharmacogenomic study in the adjuvant setting of colorectal cancer patients treated with the 5-fluorouracil/leucovorin/oxaliplatin (FOLFOX4) regimen. *Pharmacogenomics J*. 2013; 13(5):403–9. doi: [10.1038/tpj.2012.31](https://doi.org/10.1038/tpj.2012.31) PMID: [22868256](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22868256/)
 40. Izzedine H, Hulot J-S, Villard E, Goyenvallée C, Dominguez S, Ghosn J, et al. Association between ABCB2 gene haplotypes and tenofovir-induced proximal tubulopathy. *J Infect Dis*. 2006; 194(11):1481–91. PMID: [17083032](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17083032/)
 41. Rodríguez-Nóvoa S, Labarga P, Soriano V, Egan D, Albalater M, Morello J, et al. Predictors of kidney tubular dysfunction in HIV-infected patients treated with tenofovir: a pharmacogenetic study. *Clin Infect Dis*. 2009; 48(11):e108–16. doi: [10.1086/598507](https://doi.org/10.1086/598507) PMID: [19400747](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19400747/)
 42. Weiss J, Herzog M, König S, Storch CH, Ketabi-Kiyanvash N, Haefeli WE. Induction of multiple drug transporters by efavirenz. *J Pharmacol Sci*. 2009; 109(2):242–50. PMID: [19234366](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19234366/)
 43. Ribaudó HJ, Liu H, Schwab M, Schaeffeler E, Motsinger-reif AA, Ritchie MD, et al. Impact of CYP2B6, ABCB1 and CYP3A5 Polymorphisms on Efavirenz Pharmacokinetics and Treatment Response: An AIDS Clinical Trials Group Study. 2010; 202(5):717–22.

APÊNDICE B – QUADRO CONTENDO POLIMORFISMOS ASSOCIADOS À DOENÇAS NEUROPSIQUIÁTRICAS

SNP	Gene	Função do Gene	Doença Psiquiátrica Associada	Referência
rs1449984	Intergênico	-	Depressão	Terracciano et al., 2010
rs2709370	<i>CREB1</i>	Fator de Transcrição	Doença Bipolar	Li et al., 2013
rs11904814	<i>CREB1</i>	Fator de Transcrição	Depressão	Utge et al., 2009
rs6785	<i>CREB1</i>	Fator de Transcrição	Doença Bipolar	Li et al., 2013
rs9825823	<i>FHIT</i>	Metabolismo de purinas/ Supressor de Tumor	Depressão	Direk et al., 2017
rs535066	<i>GABRA2</i>	Receptor do neurotransmissor GABA	Epilepsia	Anney et al., 2014
rs147028191	<i>GABRA2</i>	Receptor do neurotransmissor GABA	Doença de Alzheimer	Herold et al., 2016
rs17641411	<i>GABRA4</i>	Receptor do neurotransmissor GABA	Declínio Cognitivo (relacionado à idade)	Raj et al., 2016
rs27072	<i>SLC6A3</i>	Transportador de dopamina	Doença Bipolar	Pinsonneault et al., 2011
rs8179029	<i>SLC6A3</i>	Transportador de dopamina	Depressão	Dong et al., 2009
rs2550936	<i>SLC6A3</i>	Transportador de dopamina	Doença Bipolar	Greenwood et al., 2013
rs349475	<i>CDH18</i>	Caderina envolvida na adesão sináptica	Depressão	Terracciano et al., 2010
rs6295	<i>HTR1A</i>	Receptor de serotonina	Doença Psiquiátrica	Donaldson et al., 2016
rs209345	<i>GABRA1</i>	Receptor do neurotransmissor GABA	Declínio Cognitivo	Li et al., 2015
rs1360780	<i>FKBP5</i>	Imunorregulação e enovelamento e tráfego de proteínas	Depressão	Lekman et al., 2008

SNP	Gene	Função do Gene	Doença Psiquiátrica Associada	Referência
rs9371601	<i>SYNE1</i>	Sinalização química entre neurônios	Depressão/Doença Bipolar	Green et al., 2013
rs17864092	<i>GRM8</i>	Receptor do neurotransmissor glutamato	Depressão	Terracciano et al., 2010
rs11009175	<i>ITGB1</i>	Adesão celular, homeostase, reparo de tecido, resposta imune	Depressão	Terracciano et al., 2010
rs2017305	<i>DDX50</i>	RNA helicase	Depressão	Terracciano et al., 2010
rs12420464	<i>EIF3F</i>	Fator de iniciação de tradução	Depressão	Terracciano et al., 2010
rs1006737	<i>CACNA1C</i>	Geração e transmissão de sinais elétricos pelas células	Doença Bipolar/ Esquizofrenia	Ruderfer et al., 2014
rs5443	<i>GNB3</i>	Integra sinais entre receptores e proteínas efetoras	Depressão	Lin et al., 2009
rs12229394	<i>TPH2</i>	Biossíntese da serotonina	Depressão	Utge et al., 2009
rs10744304	Intergênico	-	Depressão	Terracciano et al., 2010
rs7984966	<i>HTR2A</i>	Receptor de serotonina	Doença de Parkinson e Demência com Corpos de Lewy	Beecham et al., 2015
rs6311	<i>HTR2A</i>	Receptor de serotonina	Depressão	Lin et al., 2009
rs9563520	<i>PCDH17</i>	Estabelecimento e função de conexões celulares cerebrais	Alteração do Humor	Chang et al., 2017
rs1927745	<i>FAM155A</i>	Proteína transmembrana com função desconhecida	Depressão	Terracciano et al., 2010
rs8020095	<i>GPHN</i>	Ancora receptores de neurotransmissores inibitórios ao citoesqueleto pós-sináptico	Depressão	Hek et al., 2013
rs12912233	<i>RORA</i>	Receptor Nuclear Hormonal	Depressão	Terracciano et al., 2010

SNP	Gene	Função do Gene	Doença Psiquiátrica Associada	Referência
rs2242446	<i>SLC6A2</i>	Transportador de dopamina	Depressão/Síndrome do Pânico	Lee et al., 2005; Hahn et al., 2008
rs10514585	<i>CDH13</i>	Regulador negativo do crescimento axonal. Protege células epiteliais da apoptose por estresse oxidativo	Depressão	Terracciano et al., 2010
rs8070473	<i>SLFN12L</i>	Função desconhecida	Depressão	Terracciano et al., 2010
rs6318	<i>HTR2C</i>	Receptor de serotonina	Depressão	Brummett et al., 2014

ANEXO A – APROVAÇÃO DO ESTUDO PELO COMITÊ DE ÉTICA



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO GAFFRÉE E GUINLE
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

MEMO CEP-HUGG / Nº 139/ 2011

Rio de Janeiro, 17 de novembro de 2011

Ao


Ilmo. Marcelo Costa Velho Mendes de Azevedo

Pesquisador Responsável

Conforme decisão do Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, em reunião realizada em 17 de novembro de 2011, o projeto *“Farmacogenética aplicada à infecção pelo HIV: estudo do impacto de polimorfismos genéticos humanos sobre a eficácia da terapia anti-HIV e efeitos adversos.”* registrado no CEP-HUGG sob o nº **94/2011** foi analisado, de acordo com a Resolução CNS nº 196/96, e considerado **APROVADO**.

Ressaltamos que todo envio de documentação e comunicação entre pesquisador e CEP-HUGG deverá ser formalizada através de memorando numerado, datado e assinado pelo pesquisador responsável, sempre discriminando o número do projeto registrado no CEP-HUGG, bem como o seu título no SISNEP.

Informamos que, de acordo com a Resolução CNS nº 196/96, cabe ao pesquisador apresentar os relatórios parciais (semestrais) e final do projeto aprovado, observando os critérios estabelecidos pela CONEP e pelo CEP-HUGG.

Atenciosamente,


Prof. Dr. Pedro Eder Portari Filho
Coordenador do CEP-HUGG

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PARTICIPAÇÃO VOLUNTÁRIA:

Durante esta consulta você terá a oportunidade de participar de uma pesquisa que avaliará de forma ampla a doença que está comprometendo a sua saúde neste momento: a infecção pelo HIV.

Em seu tratamento são utilizados medicamentos anti-retrovirais já aprovados pelo Ministério da Saúde.

Para isso é necessário:

- a) Acompanhamento clínico regular
- b) Uso ininterrupto da medicação.
- c) Comunicação ao médico de qualquer efeito colateral ou intolerância.
- d) Realização de exames laboratoriais periódicos (em média 4 vezes ao ano).

Antes de assinar este termo, o Sr.(a) deve informar-se plenamente não hesitando em formular perguntas sobre qualquer aspecto que julgar conveniente esclarecer. É importante estar ciente das seguintes informações:

- 1- **Objetivo da investigação:** Avaliar a presença de mutações que interfiram na resposta celular ao tratamento com drogas utilizadas na terapia anti-HIV e nos efeitos adversos.
- 2- **Procedimentos que serão realizados:** o material celular que seria descartado após o processamento de sua amostra de sangue será encaminhado ao laboratório para a análise genética. A coleta será realizada por punção venosa conforme o procedimento padrão para qualquer coleta de sangue, após a sua autorização.
- 3- **Benefícios:** os resultados deste estudo não trarão benefícios diretos ao Sr.(a). Entretanto, este resultado poderá auxiliar no desenvolvimento de novas estratégias de tratamento para os pacientes infectados com o vírus HIV. Este resultado poderá auxiliar os médicos na definição de esquemas de tratamento personalizados para cada paciente.
- 4- **Riscos potenciais:** Não há risco potencial. O processo de coleta é levemente dolorido, não necessitando de qualquer tipo de medicação analgésica para tal. Será feita a punção com agulha e seringa no antebraço para a coleta de aproximadamente 30 ml de sangue. No local da punção, serão realizadas assepsia e anti-sepsia com álcool iodado ou iodoforos (substâncias que impedem a proliferação de germes), garantindo a não-contaminação do material.
- 5- **Preenchimento de uma Ficha Individual de Investigação:** Declaro estar ciente do inteiro teor deste **Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**, decidindo-me a participar da investigação proposta, depois de ter formulado perguntas e de ter recebido respostas satisfatórias a todas elas, e ciente de que poderei voltar a fazê-las a qualquer tempo. Declaro, pois, dar meu consentimento para participar desta investigação, recebendo uma cópia do termo, estando ciente ainda de que uma outra cópia permanecerá arquivada no ambulatório de Imunologia do Hospital Universitário Gaffrée e Guinle (HUGG), na Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO).

A sua participação é voluntária, isto é, a sua decisão de participar ou não da pesquisa, ou mesmo abandoná-la sem comunicação **não irá afetar de forma alguma** a sua assistência médica neste hospital.

Em caso de dúvida sobre a pesquisa, direito dos pacientes, ou aparecimento de algum dano à saúde associada à pesquisa, poderão ser contatados os seguintes médicos:

Dr. Rogério Neves Motta (UNIRIO)

Dr. Fernando Raphael de Almeida Ferry

Dr. Marcelo Costa Velho Mendes de Azevedo

Tel.: 22641676

CEP do HUGG (Com. de ética do HUGG) 2264-5177

CONSENTIMENTO INFORMADO AO PACIENTE:

- 1) Li com atenção o texto sobre informação ao paciente.
- 2) Conversei com o Dr. Marcelo Costa Velho Mendes de Azevedo, Dr. Rogério Neves Motta ou Dr. Fernando Raphael de A. Ferry
- 3) Tive a oportunidade de fazer perguntas e discutir a pesquisa
- 4) Compreendi completamente as respostas às minhas perguntas feitas aos médicos
- 5) Entendi que tenho o direito de não participar da pesquisa ou abandoná-la sem qualquer motivo, sem perder nenhum dos benefícios que teria de outra forma
- 6) Entendo que minhas informações pessoais podem ser revistas por pessoas devidamente autorizadas para conduzir a pesquisa, também serão estritamente confidenciais, resguardando minha identidade que de forma alguma poderá tornar-se pública
- 7) Aceito participar desta pesquisa.

Nome do paciente: _____

Registro: _____

Hospital Universitário Gaffrée e Guinle, de de

Assinatura do paciente

Assinatura da testemunha

Assinatura do médico assistente