



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA

FARMACOGENÉTICA DE ANTIRRETROVIRAIS EM PESSOAS COM HIV/AIDS

ORIENTANDO: Luciana Cristina de Oliveira Cândido

ORIENTADOR: Renan Pedra de Souza

BELO HORIZONTE

Dezembro – 2020

LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CÂNDIDO

**FARMACOGENÉTICA DE ANTIRRETROVIRAIS EM PESSOAS
COM HIV/AIDS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Genética.

Orientador: Dr. Renan Pedra de Souza

BELO HORIZONTE

Dezembro – 2020

- 043 Cândia, Luciana Cristina de Oliveira.
Farmacogenética de antirretrovirais em pessoas com HIV/AIDS [manuscrito]
/ Luciana Cristina de Oliveira Cândia. – 2020.
165 f. : il. ; 29,5 cm.
- Orientador: Prof. Dr. Renan Pedra de Souza.
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de
Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Genética.
1. Farmacogenética. 2. HIV. 3. Síndrome de Imunodeficiência Adquirida. 4.
Terapia Antirretroviral de Alta Atividade. 5. Medicina de Precisão. 6.
Polimorfismo Genético. I. Souza, Renan Pedra de. II. Universidade Federal de
Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 575



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
 Instituto de Ciências Biológicas
 Programa de Pós-Graduação em Genética

ATA DE DEFESA DE TESE

ATA DA DEFESA DE TESE	135/2020
LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CÂNDIDO	Entrada 1º/2017
	CPF: 304.433.398-99

Às treze horas e trinta minutos do dia **17 de dezembro de 2020**, reuniu-se, remotamente devido a pandemia do novo coronavírus (COVID19) a Comissão Examinadora de Tese, indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar, em exame final, o trabalho intitulado: "**Farmacogenética de antiretrovirais em pessoas com HIV/AIDS**", requisito para obtenção do grau de Doutora em **Genética**. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, **Dr. Renan Pedra de Souza**, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra à candidata, para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos Examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu, sem a presença da candidata e do público, para julgamento e expedição de resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof./Pesq.	Instituição	CPF	Indicação
Dr. Renan Pedra de Souza	UFMG	064.488.066-01	APROVADA
Dra. Ana Lúcia Brunialti Godard	UFMG	107.961.538-50	APROVADA
Dr. Renato Santana de Aguiar	UFMG	000.086.336-06	APROVADA
Dra. Larissa Paola Rodrigues Venâncio	UFOB	326.516.068-80	APROVADA
Dr. Rafael Lima Guimarães	UFPE	833.951.804-68	APROVADA

Pelas indicações, a candidata foi considerada: **APROVADA**

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a reunião e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 17 de dezembro de 2020.

Dr. Renan Pedra de Souza - UFMG

Dra. Ana Lúcia Brunialti Godard - UFMG

Dr. Renato Santana de Aguiar - UFMG


Dra. Larissa Paola Rodrigues Venâncio - UFOB

Dr. Rafael Lima Guimarães - UFPE

Assinatura dos membros da banca examinadora:

	Documento assinado eletronicamente por Renan Pedra de Souza , Professor do Magistério Superior, em 17/12/2020, às 17:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015 .
	Documento assinado eletronicamente por Rafael Lima Guimarães , Usuário Externo, em 17/12/2020, às 17:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015 .
	Documento assinado eletronicamente por Ana Lucia Brunialti Godard , Professora do Magistério Superior, em 17/12/2020, às 17:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015 .
	Documento assinado eletronicamente por Renato Santana de Aguiar , Professor do Magistério Superior, em 17/12/2020, às 17:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015 .

https://sei.ufmg.br/sei/controlador.php?acao=documento_imprimir_web&acao_origem=arvore_visualizar&id_documento=491467&infra_sistema=... 1/2

 Documento assinado eletronicamente por **Larissa Venancio**, Usuário Externo, em 18/12/2020, às 10:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0484254** e o código CRC **F441C2A1**.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Genética

FOLHA DE APROVAÇÃO

"Farmacogenética de antiretrovirais em pessoas com HIV/AIDS"

LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CÂNDIDO

Tese aprovada pela banca examinadora constituída pelos Professores:

Dr. Renan Pedra de Souza
UFMG

Dra. Ana Lúcia Brunialti Godard
UFMG

Dr. Renato Santana de Aguiar
UFMG

Dra. Larissa Paola Rodrigues Venâncio
UFOB

Dr. Rafael Lima Guimarães
UFPE

Belo Horizonte, 17 de dezembro de 2020.



Documento assinado eletronicamente por **Rafael Lima Guimarães, Usuário Externo**, em 17/12/2020, às 17:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renan Pedra de Souza, Professor do Magistério Superior**, em 17/12/2020, às 17:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Renato Santana de Aguiar, Professor do Magistério Superior**, em 17/12/2020, às 17:54, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Lúcia Brunialti Godard, Professora do Magistério Superior**, em 17/12/2020, às 17:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Larissa Venancio, Usuário Externo**, em 18/12/2020, às 10:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0484264** e o código CRC **88567AB3**.

DEDICATÓRIA

*A Deus, pois quando eu olho para trás e vejo aonde cheguei,
eu vejo como cuidou de mim e de minha família.
Sem Ele eu não venceria tudo o que eu venci.
Com minhas próprias forças eu não estaria aqui!*

AGRADECIMENTOS

Na iminência de realizar esse sonho, eu quero agradecer...

Ao meu esposo Ederson e minhas filhas Gabriela e Nathália, que me acompanharam e me deram forças durante essa trajetória de muitas ausências, choros e superações. Meu esposo que se revelou um grande parceiro, que com paciência e confiança administrou minhas ausências, e com sabedoria me fazia acreditar que, no final, tudo valeria a pena.

Aos meus pais Jaime e Teresa, meus sogros Laércio e Vera e cunhada Alethéia, que tantas e tantas vezes cuidaram com zelo de minhas filhas e de Tiffany durante minhas viagens para BH, sem os quais eu não teria tido a serenidade necessária para executar minhas atividades.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Renan Pedra de Souza, cuja convivência durante a execução do projeto exerceu “impacto significativo” não apenas na minha formação profissional, mas também humana. Me senti abençoada e privilegiada por ter sido sua orientanda! Obrigada por toda a paciência e compreensão.

À minha amiga Juliane V. Salomão, companheira de tantas viagens e cuja companhia ajudava a diminuir o sentimento de solidão em BH. Ao meu colega e amigo João Locke, não só pela bancada, mas principalmente por compartilhar seus conhecimentos e pela grande disponibilidade em me ajudar durante esses anos. E ao meu colega Diego Menezes.

Agradeço ao Dr. Luciano A. Reale, à Rita de Cassia S. Silva e toda equipe do Serviço ambulatorial especializado Edgard Pita.

À Universidade Federal do Oeste da Bahia pela iniciativa do DINTER. Ao Programa de Pós-Graduação em Genética da UFMG, seus professores, funcionários e colegas. Aos laboratórios de Genética Humana e Médica (Profa. Dra Maria Raquel S. Carvalho), Biotecnologia e Marcadores Moleculares (Prof. Dr. Evanguedes Kalapothakis) e Genética Celular e Molecular (Prof. Dr. Vasco Ariston C. Azevedo) pela infraestrutura oferecida. À CAPES pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	i
LISTA DE TABELAS	iii
LISTA DE ABREVIACÕES.....	v
RESUMO.....	vii
ABSTRACT	viii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 A síndrome da imunodeficiência adquirida e a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana.....	1
1.1.1 Histórico.....	1
1.1.2 Epidemiologia	2
1.1.3 Vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) e Ciclo replicativo	3
1.1.4 História natural da doença e patogênese	7
1.2 Tratamento da infecção pelo HIV	9
1.2.1 Farmacocinética da terapia antirretroviral	10
1.2.2 Da monoterapia à terapia antirretroviral altamente ativa	12
1.2.3 Desafios clínicos relacionados ao tratamento	13
1.3 Estudos de associação genética secundários.....	20
1.4 JUSTIFICATIVA	21
2. OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo Geral	22
2.2 Objetivos específicos	22
3. METODOLOGIA.....	23
3.1 Descrição do estudo.....	23
3.2 Estudo de associação farmacogenética secundário	23
3.2.1 Revisão sistemática	23
3.2.2 Metanálise	24

3.3 Estudo de associação genética primário	25
3.3.1 Desenho do estudo e questões éticas.....	25
3.3.2 Descrição da amostra e critérios de inclusão e exclusão	25
3.3.3 Procedimentos para a coleta de material biológico e de dados.	26
3.3.4 Extração de DNA e Genotipagem	26
3.3.5 Análise dos dados e Estatística.....	28
4. RESULTADOS	30
4.1 Revisão sistemática com Metanálise	30
4.1.1 Farmacogenética do abacavir	31
4.1.2 Farmacogenética do tenofovir	33
4.1.3 Farmacogenética do efavirenz	41
4.1.4 Farmacogenética da nevirapina	45
4.1.5 Farmacogenética dos inibidores de protease.....	50
4.1.6 Farmacogenética da HAART.....	53
4.1.7 Resumo dos resultados das metanálises	55
4.2 Estudo de associação genética primário	56
4.2.1 Características epidemiológicas dos participantes do estudo	56
4.2.2 Características clínicas dos participantes do estudo	57
4.2.3 Frequências alélicas e genotípicas dos SNPs investigados.....	59
4.2.4 Estatísticas univariadas para analisar a contribuição de variáveis clínicas e epidemiológicas sobre a dinâmica dos linfócitos T-CD4 ⁺ ao longo do tempo de tratamento.....	60
4.2.5 Estatísticas univariadas para analisar a contribuição de variáveis genéticas sobre a dinâmica dos linfócitos T-CD4 ⁺ ao longo do tempo de tratamento.....	63
4.2.6 Análise estatística multivariada	68
5. DISCUSSÃO	70
6. LIMITAÇÕES.....	85

7. PERSPECTIVAS.....	85
8. CONCLUSÕES.....	86
9. REFERÊNCIAS.....	87
10. ANEXOS.....	113
11. APÊNDICES.....	116

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura do HIV.....	4
Figura 2: Esquema do genoma (DNA) do HIV-1 ¹⁸	5
Figura 3: Ciclo de vida do HIV.....	6
Figura 4. História natural da infecção pelo HIV-1.....	7
Figura 5: Mecanismo de ação dos antirretrovirais.....	9
Figura 6: Representação gráfica do resultado de metanálise	21
Figura 7: Fluxograma ilustrando as etapas gerais do trabalho.....	23
Figura 8: Diagrama de fluxo (PRISMA).....	30
Figura 9: Metanálise da associação entre a presença do alelo HLA-B*5701 e HSR (reação de hipersensibilidade) induzida pelo abacavir.....	32
Figura 10: Metanálise da associação entre o SNP ABCB1 rs2032582 e KTD (disfunção tubular renal) induzida pelo tenofovir	35
Figura 11: Metanálise da associação entre o SNP ABCC2 rs2273697 e KTD (disfunção tubular renal) induzida pelo tenofovir.....	36
Figura 12: Metanálise da associação entre o SNP ABCC2 rs717620 e KTD (disfunção tubular renal) induzida pelo tenofovir	37
Figura 13: Metanálise da associação entre o SNP ABCC4 rs1751034 e KTD (disfunção tubular renal) induzida pelo tenofovir.....	378
Figura 14: Metanálise da associação entre o SNP ABCC10 rs9349256 e KTD (disfunção tubular renal) induzida pelo tenofovir.....	39
Figura 15: Metanálise da associação entre o SNP ABCC10 rs2125739 e KTD (disfunção tubular renal) induzida pelo tenofovir.....	40
Figura 16: Metanálise da associação entre o SNP CYP2B6 rs3745274 e AE CNS (efeitos adversos no sistema nervoso central) induzidos pelo efavirenz.....	45

Figura 17. Metanálise da associação entre a presença do alelo HLA-Cw *0401 e HSR (reação de hipersensibilidade) induzida pela nevirapina.....	48
Figura 18. Metanálise da associação entre a presença do alelo HLA-DRB*01 e HSR (reação de hipersensibilidade) induzida pela nevirapina.....	489
Figura 19. Metanálise da associação entre o SNP CYP2B6 rs3745274 e HSR (reação de hipersensibilidade) induzida pela nevirapina.....	50
Figura 20. Metanálise da associação entre o alelo UGT1A1*28 e hiperbilirrubinemia induzida pelo atazanavir.....	53
Figura 21: Cinética da contagem de linfócitos T-CD4 ⁺ (células/mm ³) a partir do diagnóstico ao último registro de CD4 ⁺ disponível.	59
Figura 22: Análise da contribuição de variáveis clínicas e epidemiológicas sobre a contagem média de linfócitos T-CD4 ⁺ (células/mm ³) ao longo de até 3.651 dias de tratamento.	62
Figura 23: Análise da contribuição dos diferentes modelos genotípicos para o SNP ABCB1 3435C>T, sobre a contagem média de linfócitos T-CD4 ⁺ (células/mm ³) ao longo de até 3.651 dias de tratamento.	65
Figura 24: Análise da contribuição dos diferentes modelos genotípicos para o SNP CYP2B6 516G>T, sobre a contagem média de linfócitos T-CD4 ⁺ (células/mm ³) ao longo de até 3.651 dias de tratamento.	66
Figura 25: Análise da contribuição dos diferentes modelos genotípicos para o SNP TNF α -308G>A, sobre a contagem média de linfócitos T-CD4 ⁺ (células/mm ³) ao longo de até 3.651 dias de tratamento.	67
Figura 26: Análise da contribuição dos diferentes modelos genotípicos para o SNP TNF α -238G>A, sobre a contagem média de linfócitos T-CD4 ⁺ (células/mm ³) ao longo de até 3.651 dias de tratamento.	68

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Relação de genes e variantes estudadas, suas Sequências de Referência (do inglês Reference Sequence, RefSeq), tipo de mutação; os códigos das sondas e a aplicação funcional.	27
Tabela 2: Frequências dos alelos minoritários nos SNPs analisados de acordo com o Projeto genoma 1000 nas amostras representativas de descendentes de africanos e da população global, e de acordo com Applied Biosystems para caucasianos.....	27
Tabela 3. Revisão sistemática de estudos de associação farmacogenética da resposta clínica à terapia contendo abacavir.	31
Tabela 4. Revisão sistemática de estudos de associação farmacogenética da resposta clínica à terapia contendo tenofovir	33
Tabela 5. Revisão sistemática de estudos de associação farmacogenética da resposta clínica adversos à terapia contendo efavirenz.....	41
Tabela 6: Revisão sistemática de estudos de associação farmacogenética da resposta clínica à terapia contendo nevirapina.	46
Tabela 7: Revisão sistemática de estudos de associação farmacogenética da resposta clínica à terapia contendo inibidores de protease.	51
Tabela 8. Revisão sistemática de estudos de associação farmacogenética da resposta clínica à HAART, à terapia com INTRs, à terapia com INTRs/INNTRs e à terapia com inibidores de protease.	54
Tabela 9: Resumo dos resultados das metanálise realizadas. Em negrito estão os resultados que foram estatisticamente significativos.....	55
Tabela 10: Características clínicas e demográficas da população em estudo.	56
Tabela 11: Características clínicas dos pacientes.....	57
Tabela 12: Frequência alélica, genotípica e Equilíbrio de Hardy Weinberg para os SNPs ABCB1 3435C>T, CYP2B6 516G>T, TNF α -308G>A e TNF α -238G>A.	60

Tabela 13: Análise univariada por modelo longitudinal de efeito aleatório para a contribuição de variáveis clínicas e epidemiológicas sobre a dinâmica de linfócitos T-CD4 ⁺ (células/mm ³) ao longo do tempo de tratamento.	61
Tabela 14: Análise univariada por modelo longitudinal de efeito aleatório para a contribuição de variáveis genéticas sobre a dinâmica de CD4 ⁺ ao longo do tempo de tratamento.	63
Tabela 15: Análise multivariada por modelo longitudinal de efeito aleatório para a contribuição de variáveis clínicas e epidemiológicas sobre a dinâmica de CD4 ⁺ ao longo do tempo de tratamento.....	69
Tabela 16: Análise multivariada por modelo longitudinal de efeito aleatório para a contribuição de variáveis clínicas e epidemiológicas sobre a dinâmica de CD4 ⁺ ao longo do tempo de tratamento.....	69

LISTA DE ABREVIÇÕES

3TC	Lamivudina
ABC	ATP-binding cassette, Sítios de ligação de ATP
ABCB1	Polipeptídeo membro 1 da família B da superfamília ABC
ABCC2	Polipeptídeo membro 2 da família C da superfamília ABC
ABCC4	Polipeptídeo membro 4 da família C da superfamília ABC
ABCC10	Polipeptídeo membro 10 da família C da superfamília ABC
AE CNS	Efeitos adversos no sistema nervoso central
CCR5	Receptores de quimiocina tipo 5
CD4 ⁺	Receptor de membrana CD4 ⁺
CXCR4	Receptores de quimiocina tipo 4
CYP	Superfamília citocromo P450
CYP2B6	Polipeptídeo membro 6 da subfamília B da família 2 da superfamília CYP
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EFZ	Efavirenz
<i>gag</i>	Gene estrutural do HIV-1
<i>gag-pol</i>	Gene que codifica polipeptídeo do HIV-1
gp120	Glicoproteína do envelope gp120
gp41	Glicoproteína do envelope gp41
GWAS	Genome-wide association study
HAART	Highly active antiretroviral therapy, Terapia antirretroviral altamente ativa
HIV-1	Vírus da imunodeficiência humana tipo 1
HSR	Hypersensitivity reaction, Reação de hipersensibilidade
IC	Intervalo de confiança
INNTR	Inibidores não nucleosídicos da transcriptase reversa
INTR	Inibidores nucleosídicos da transcriptase reversa
KTD	Kidney tubular dysfunction, Disfunção tubular renal
log ₁₀	Logaritmo de base 10
LTR	Long terminal repeats, Repetição terminal longa
mL	Mililitro
mm ³	Milímetro cúbico

<i>nef</i>	Gene funcional do HIV-1
Nef	Proteína do HIV-1 que atua impedindo mecanismos de defesa da célula infectada, codificada pelo gene nef
OR	Odds ratios
p6	Proteína do HIV-1
p7	Proteína do nucleocapsídeo do HIV-1
p17	Proteína da matriz do HIV-1
p24	Proteína do capsídeo viral do HIV-1
PCR	Reação em cadeia da DNA polimerase
<i>pol</i>	Gene estrutural do HIV-1
PVHA	Pessoas vivendo com HIV/AIDS
RNA	Ácido Ribonucleico
RefSeq	Reference Sequence
SNP	Single nucleotide polymorphism, Polimorfismo de Nucleotídeo Único
<i>tat</i>	Gene funcional do HIV-1
Tat	Proteína regulatória do HIV-1 codificada pelo gene tat
TDF	Tenofovir
TNF	Fator de necrose tumoral
UGT	Uridina difosfato Glicuronosil Transferase
UGT1A1	Polipeptídeo membro 1 da subfamília A da família 1 da superfamília UGT
UNAIDS	Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS
<i>ver</i>	Gene funcional do HIV-1
Ver	Proteína regulatória do HIV-1 codificada pelo gene rev
<i>vif</i>	Gene funcional do HIV-1
<i>vpr</i>	Gene funcional do HIV-1
Vpr	Proteína do HIV-1 responsável pelo transporte viral codificada pelo gene vpr
<i>Vpu</i>	Gene funcional do HIV-1
Vpu	Proteína do HIV-1, responsável pelo escape do vírus, codificada pelo gene vpu

RESUMO

Um dos principais desafios da terapia antirretroviral é sua imprevisibilidade e variabilidade interindividual em seu desfecho. Investigou-se a contribuição de variáveis genéticas, clínicas e epidemiológicas como potenciais preditores da resposta à terapia antirretroviral em pacientes com HIV/AIDS. Para tanto, foi realizada uma revisão sistemática com metanálise. Além disso, 291 pacientes foram genotipados para ABCB1 rs1045642, CYP2B6 rs3745274 e TNF- α rs1800629, rs361525 utilizando sondas Taqman. Os resultados da metanálise demonstraram associação entre HLA-B*5701 e a reação de hipersensibilidade ao abacavir (O.R.=28,51; I.C.=9,95-81,71); ABCC4 rs1751034 e a disfunção tubular renal induzida pelo tenofovir (O.R.=2,98; I.C.=1,41-6,28); CYP2B6 rs3745274 e efeitos adversos no sistema nervoso central ao efavirenz (O.R.=2,10; I.C.=1,04-4,24); HLA-Cw*0401 (O.R.=2,98; I.C.=2,18-4,08) e HLA-DRB*01 (O.R.=2,52; I.C.=1,29-4,91) e a reação de hipersensibilidade à nevirapina; e UGT1A1*28 e a hiperbilirrubinemia induzida pelo atazanavir (O.R.=7,17; I.C.=4,32-11,91). O estudo primário revelou que 53% dos pacientes envolvidos se apresentaram tardiamente aos cuidados ($CD4^+ \leq 350$ células/mm³). Observou-se que dos indivíduos que iniciaram a HAART com $CD4^+ \leq 200$, 350 e 500 células/mm³, 58, 45 e 38%, respectivamente, não recuperaram valores acima de 500 células/mm³. O estudo demonstrou que o sexo masculino ($p=0,02$) e o aumento da idade ao diagnóstico ($p=0,01$) estão associados ao menor ganho de $CD4^+$. Já o uso do esquema TDF+3TC+EFZ ($p=0,03$), inibidores de protease ($p<0,0001$) e tenofovir ($p=0,0003$) associados ao aumento de $CD4^+$. A análise demonstrou que os polimorfismos analisados não estão associados com a dinâmica de $CD4^+$ durante a terapia. Conclui-se que a área da farmacogenética fornece evidências que podem auxiliar no direcionamento da personalização terapêutica para a prescrição do tenofovir, nevirapina e atazanavir. A apresentação tardia aos cuidados é um grande entrave para o início precoce da HAART, sem o qual muitos não recuperam a imunidade. Se alcançar valores de 500 células/mm³ de $CD4^+$ faz com que a taxa de mortalidade se equipare ao da população em geral, esse deveria ser o objetivo da clínica para todos os pacientes.

Palavras-chave: HIV/AIDS, Terapia antirretroviral, Efeitos adversos, Farmacogenética, Medicina de precisão, Polimorfismos, Recuperação imunológica.

ABSTRACT

One of the main challenges of antiretroviral therapy is its unpredictability and inter-individual variability in its outcome. The contribution of genetic, clinical and epidemiological variables as potential predictors of the response to antiretroviral therapy in patients with HIV/AIDS was investigated. Therefore, a systematic review with meta-analysis was carried out. In addition, 291 patients were genotyped for ABCB1 rs1045642, CYP2B6 rs3745274 and TNF- α rs1800629, rs361525 using Taqman probes. The results of the meta-analysis demonstrated an association between HLA-B*5701 and the hypersensitivity reaction to abacavir (O.R.=28.51; C.I.=9.95-81.71); ABCC4 rs1751034 and tenofovir-induced renal tubular dysfunction (O.R.=2.98; C.I.=1.41-6.28); CYP2B6 rs3745274 and central nervous system adverse effects to efavirenz (O.R.=2.10; C.I.=1.04-4.24); HLA-Cw*0401 (O.R.=2.98; C.I.=2.18-4.08) and HLA-DRB*01 (O.R.=2.52; C.I.=1.29-4.91) and nevirapine-induced hypersensitivity reaction; and UGT1A1*28 and atazanavir-induced hyperbilirubinemia (O.R.=7.17; C.I.=4.32-11.91). The primary study revealed that 53% of the patients involved presented themselves late for care ($CD4^+ \leq 350$ cells/mm³). It was observed that of the individuals who started HAART with $CD4^+ \leq 200$, 350 and 500 cells/mm³, 58%, 45% and 38%, respectively, did not recover values above 500 cells/mm³. This study showed that males ($p=0.02$) and those at an advanced age at the time of diagnosis ($p=0.01$) were associated with lower $CD4^+$ gain. The use of the TDF+3TC+EFZ scheme ($p=0.03$), protease inhibitors ($p<0.0001$) and tenofovir ($p=0.0003$) were associated with the increase in $CD4^+$ count. The analysis showed that the polymorphisms analyzed are not associated with $CD4^+$ dynamics during therapy. It is concluded that the area of pharmacogenetics provides evidence that can assist in directing therapeutic customization for the prescription of tenofovir, nevirapine and atazanavir. Late presentation to care is a major obstacle to the early onset of HAART, without which many do not recover immunity. If reaching values of 500 cells/mm³ of $CD4^+$ causes the mortality rate to match that of the general population, this should be the goal of the clinic for all patients.

Keywords: HIV/AIDS, Antiretroviral therapy, Adverse effects, Pharmacogenetics, Precision medicine, Polymorphisms, Immune recovery.

1. INTRODUÇÃO

1.1 A síndrome da imunodeficiência adquirida e a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana.

1.1.1 Histórico

Em meados de 1981, o Center for Disease Control publicou informações epidemiológicas de cinco homens que mantinham relações sexuais com homens da cidade de Los Angeles (EUA), com pneumonia por *Pneumocystis carinii* e Sarcoma de Kaposi, doenças características de sistemas imunológicos deprimidos¹. Novos casos foram identificados em homens que mantinham relações sexuais com homens da Califórnia, Nova York e outras cidades americanas, um mês após o ocorrido². Ações de vigilância nacional foram conduzidas a fim de identificar os fatores de risco dessa nova doença, mas o histórico levou o primeiro editorial a sugerir que estaria relacionada ao comportamento sexual de homens³. Nesse período, casos semelhantes surgiam com frequência. Entretanto, nos meses seguintes, pacientes hemofílicos e haitianos recém-chegados aos EUA, os quais eram usuários de drogas intravenosas e heterossexuais, também apresentavam sintomas similares².

Esses acontecimentos evidenciaram que o agente etiológico era transmissível também por sexo heterossexual e por sangue ou hemoderivados contaminados por um agente até então desconhecido. Essa doença altamente infecciosa, que destruía o sistema imune das vítimas, foi, posteriormente, nomeada de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (do inglês, *Acquired Immunodeficiency Syndrome - AIDS*)². Em pouco tempo, afetou milhares de pessoas, tanto nos Estados Unidos da América quanto em outros países, tornando a AIDS reconhecida mundialmente, passando a ser o problema de saúde mais desafiador e devastador nas últimas décadas³. Em 1983, foi identificado um retrovírus de células do sistema imune de indivíduos com sintomas de AIDS. Mais tarde, esse vírus passaria a ser conhecido como o vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (do inglês, *human immunodeficiency virus - HIV*)^{4,5}.

Estudos retrospectivos demonstraram que o HIV-1 surgiu na África (República de Camarões), derivado de um vírus da imunodeficiência de símios, que infectava chimpanzés. Os humanos entraram em contato com o vírus através do hábito que existia em alguns povoados de se alimentar da carne desses animais. Após um processo de adaptação ao hospedeiro humano, o HIV-1 passou a ser transmissível entre pessoas³. O mais antigo relato de HIV-1 foi um diagnóstico retrospectivo em Kishna, capital da República Democrática do Congo, por meio de uma amostra de soro coletada em 1959. Estima-se que o vírus tenha feito a transição para a espécie humana no início da década de 1930. É provável que a doença tenha permanecido desconhecida nesse período, uma vez que a transmissão estava limitada a pequenos povoados onde as taxas de promiscuidade sexual eram baixas. Após o declínio do colonialismo europeu na África Central, a população foi se tornando cada vez mais urbana, o que contribuiu para disseminar a doença. A origem e o crescimento rápido de grandes aglomerações e o uso generalizado de substâncias injetáveis podem ter contribuído para a disseminação do vírus entre humanos na África³.

1.1.2 Epidemiologia

A AIDS é uma das mais devastadoras epidemias dos últimos anos. Desde a sua descrição em 1981, tem causado impacto de enormes proporções. Segundo fontes das Nações Unidas, o vírus já infectou aproximadamente 75 milhões de pessoas e matou mais de 32 milhões. Nos anos 2000, o mundo testemunhava um número extraordinário de novas infecções pelo HIV diariamente, onde 8.500 pessoas eram infectadas pelo vírus e 4.300 morriam de doenças relacionadas à AIDS^{6,7}. Entretanto, contra todas as expectativas, esses números foram impactados desde a implementação das Metas do Desenvolvimento do Milênio em 2000, cujo compromisso com a luta contra o HIV tem sido crucial no controle dessa epidemia. Desde sua implementação, com estratégias como a ampliação da cobertura da terapia antirretroviral e sua eficácia, o número de novas infecções reduziu 35% e o número de mortes por causas relacionadas à AIDS diminuiu 41%, em alguns países⁶. Tais metas possibilitaram que em 2019, das 38 milhões de pessoas vivendo com HIV/AIDS (PVHA), 25,4 milhões (66,8%) tivessem acesso à terapia⁷.

Contudo, milhões de pessoas todo ano ainda são infectadas pelo vírus. Só no ano de 2019, 1,7 milhões de pessoas foram infectadas e, aproximadamente, 690.000 morreram por doenças relacionadas à AIDS. Estima-se que em 2017, aproximadamente, 180.000 crianças foram infectadas e 110.000 morreram por doenças relacionadas à AIDS. No Brasil, em 2018, foram diagnosticados 43.941 novos casos de infecção pelo HIV e 10.980 óbitos; totalizando, no período de 1980 a junho de 2019, 966.058 casos de AIDS detectados no país⁹.

Nesse contexto, muitos desafios precisam ainda ser superados, como o fato de 9,4 milhões de PVHA não conhecerem seu estado e, aproximadamente, 15 milhões de PVHA ainda não terem acesso à terapia. Além disso, o fato de muitos pacientes que iniciam a terapia a interromperem devido às falhas no tratamento, toxicidade e efeitos colaterais, é um agravante para o controle da epidemia. Sendo assim, uma investigação intensa ainda é necessária para fornecer uma terapia antirretroviral com menos efeitos colaterais, menos toxicidade e desenvolver diferentes estratégias a fim de aumentar a adesão ao tratamento, evitar o ressurgimento da replicação viral e, finalmente, controlar o HIV^{6,10,11}.

1.1.3 Vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1) e Ciclo replicativo

O HIV-1 pertence à família Retroviridae, do gênero Lentivirus. É um vírus com formato esférico, constituído por um envelope formado por uma dupla camada de fosfolípidios, onde são encontradas inúmeras projeções de glicoproteínas gp41 e gp120 (Figura 1). A gp41 atravessa o envelope e está ligada à gp120, que é a projeção mais externa do vírus, ambas responsáveis pela ligação do HIV com a célula hospedeira. Em seu interior, um capsídeo envolve o genoma viral constituído por duas fitas simples de RNA associadas a três enzimas virais (transcriptase reversa, integrase e protease)^{4,15-16} e proteínas acessórias¹⁵, consiste no arcabouço indispensável para sua replicação nas células hospedeiras.

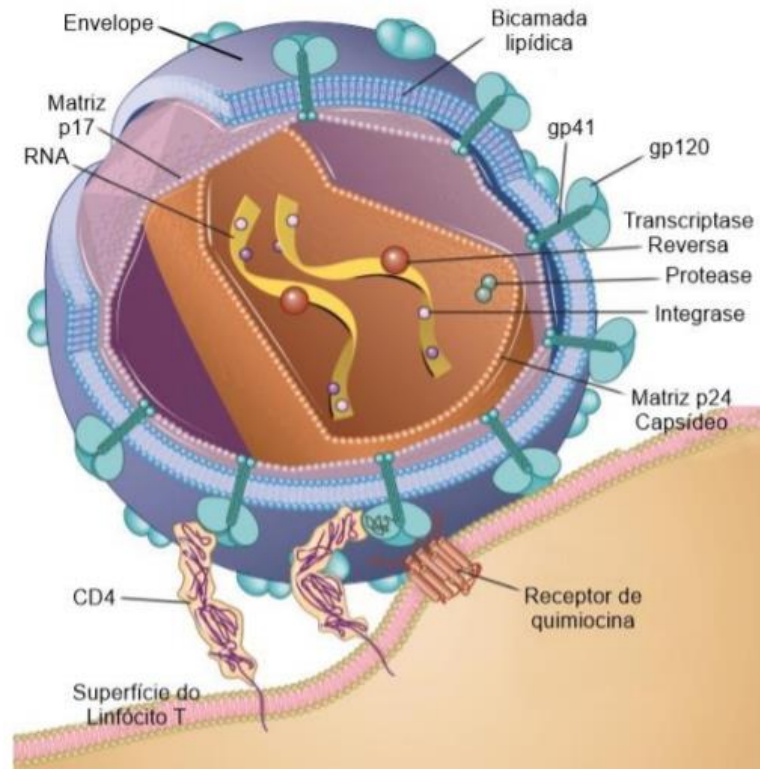


Figura 1: Estrutura do HIV. Proteínas gp120 e gp41 estão na membrana viral e as proteínas p17 encontram-se entre o envelope e o capsídeo. O capsídeo viral contém a p24, que envolve duas fitas de RNA e as enzimas transcriptase reversa, protease e integrase. Fonte: Adaptado de Abbas e cols., 2018¹⁶.

O material genético do HIV-1 possui, aproximadamente, 10.000 nucleotídeos, distribuídos em nove matrizes abertas de leitura (Figura 2). Os genes *gag*, *env*, *pol*, *tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr* e *vpu* codificam 15 proteínas típicas da família Retroviridae. Dentre as proteínas temos as proteínas estruturais: p17, p24, p7 e p6, codificadas pelo *gag*; glicoproteína do envelope gp120 e gp41, codificadas pelo *env*, envolvidas na formação do envelope viral lipoproteico e na entrada do vírus na célula alvo^{15,17}. A matriz aberta de leitura *gag-pol* codifica um polipeptídeo que, após clivado, origina as enzimas viriais transcriptase reversa, integrase e protease, envolvidas na replicação, maturação e capacidade infecciosa da partícula viral. Os demais genes (*vif*, *vpr*, *tat*, *rev*, *nef* e *vpu*) codificam proteínas regulatórias e acessórias também envolvidas na infecção e patogênese. Em ambas as extremidades 5' e 3' do genoma viral existem repetições terminais longas (LTR) com a função de inseri-lo no genoma do hospedeiro e regular a expressão de seus próprios genes^{15,17}.

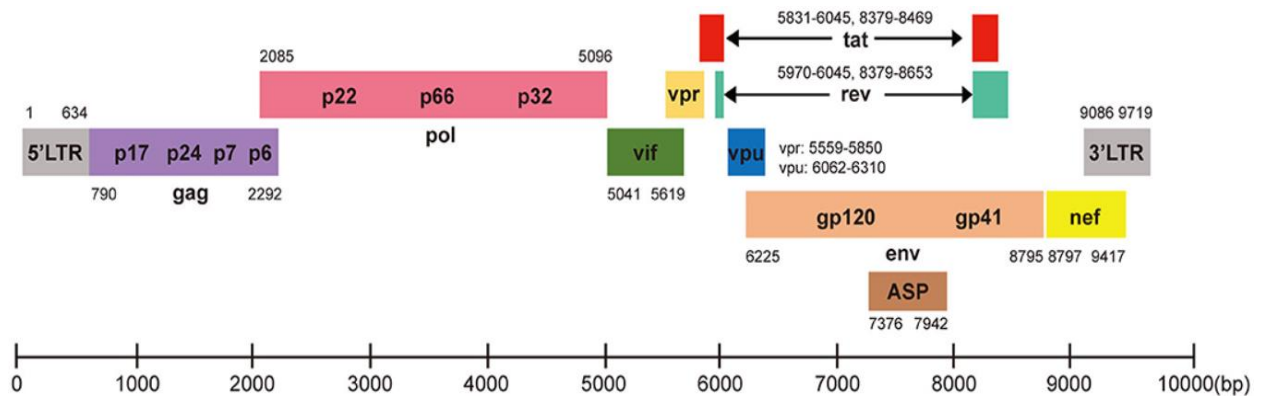


Figura 2: Esquema do genoma (DNA) do HIV-1¹⁸.

Em 1984, foi descoberta a grande afinidade do HIV-1 pelos receptores CD4 e em 1996, aproximadamente após uma década de estudos, o processo de infecção pelo HIV ficou esclarecido^{19,20}. Descobriu-se que, além de interagir com o receptor CD4, o vírus também precisava interagir com receptores para quimiocinas CCR5^{21–25} ou CXCR4^{24–26}. Tais características faziam dos linfócitos T-CD4⁺ suas principais células-alvo, o que justificava a progressiva imunossupressão e as frequentes infecções oportunistas as quais o portador era acometido^{27,28}. Além disso, essa característica também permitia ao vírus infectar monócitos, macrófagos e células dendríticas, as quais liberam partículas virais maduras no plasma sanguíneo e em fluidos corporais, tais como fluido vaginal, sêmen e leite materno. Assim, esclareceu-se o processo de transmissão através do contato sexual sem preservativo, amamentação, transfusão de sangue e uso de seringas contaminadas²⁹.

O ciclo replicativo do HIV-1 pode ser descrito em seis etapas: ligação/penetração na célula alvo; desnudamento; retrotranscrição; integração; síntese/montagem e, por fim, escape/maturação (Figura 3). O ciclo envolve a interação do complexo gp41-gp120-CD4 com o co-receptor CCR-5 ou CXCR-4 na membrana da célula-alvo. Vale ressaltar que no início da infecção o HIV-1 usa, predominantemente, receptores CCR5 e que, com o curso da infecção, os vírus se adaptam e passam a utilizar também os CXCR-4, contribuindo com a progressão da doença¹².

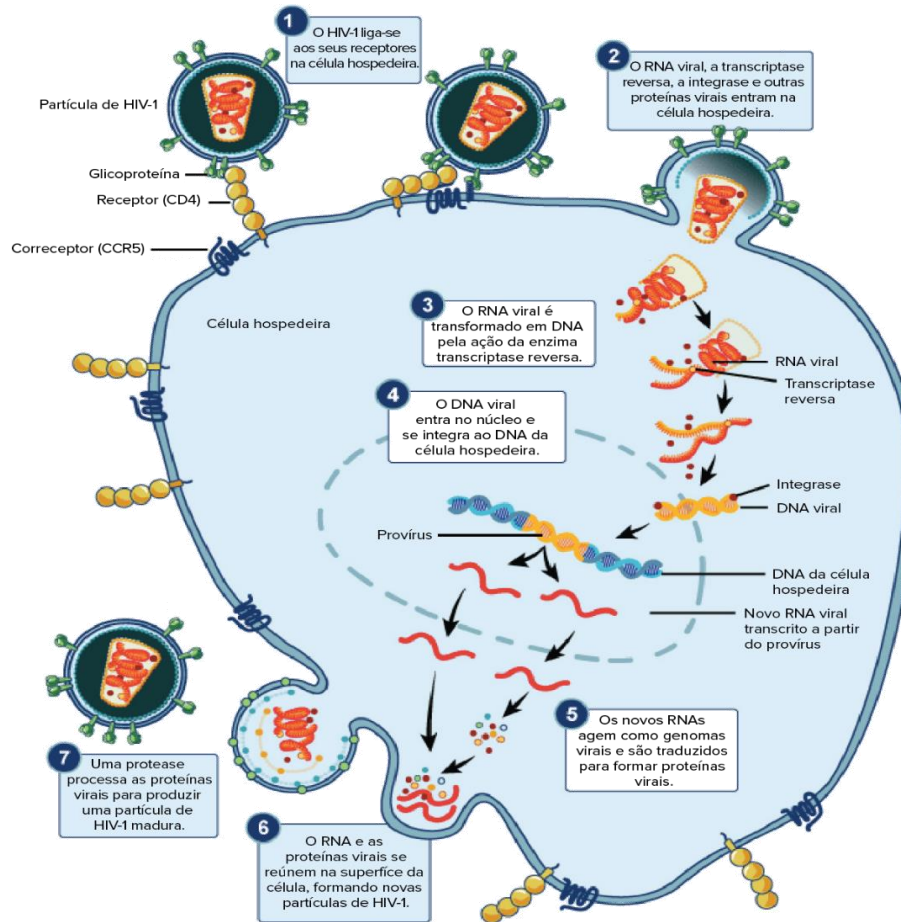


Figura 3: Ciclo de vida do HIV. O vírus se utiliza de receptores na membrana celular dos linfócitos T CD4+ para fazer a ligação e fusão de sua membrana com a da célula hospedeira (1 e 2). Em seguida, o capsídeo penetra na célula (2) e libera seu material genético no citoplasma para ação da transcriptase reversa (3). O provírus sintetizado entra no núcleo e é integrado ao DNA do hospedeiro por meio da integrase (4), conduzindo a síntese de novo material viral (5). Novos vírus são montados, brotam da célula (6) e sofrem maturação (7) para um novo ciclo infeccioso. Fonte: Adaptado de Biology for AP® Courses 2018³⁰.

Primeiramente, a proteína gp120 do envelope viral é reconhecida pelo receptor CD4. Essa interação (ligação) inicia uma série de eventos: alteração conformacional em gp120, levando a interação com o correceptor de quimiocina. Essa interação causa exposição do domínio hidrofóbico em gp41 (chamado peptídeo de fusão), que se insere na membrana celular, promovendo a fusão desta com o envelope viral e a penetração do capsídeo viral no citoplasma da célula (penetração)^{26,31,32}. No citoplasma, enquanto o capsídeo viral é desmontado (desnudamento) a enzima transcriptase reversa inicia a retrotranscrição, sintetizando inicialmente um DNA de fita simples, depois utilizando este como molde para sintetizar o DNA dupla fita. É importante ressaltar que esta enzima não tem capacidade de reparar erros que podem

ocorrer durante a retrotranscrição, o que eleva as taxas de mutações do vírus. Assim, após o genoma proviral ser sintetizado, o DNA viral se associa a um complexo de pré-integração e este é transportado para o núcleo da célula, onde a enzima integrase processa a incorporação do DNA viral ao DNA da célula alvo. Em seguida, caso a célula esteja ativa, são transcritos RNAs virais e sintetizadas as proteínas virais, que são montados em novas partículas virais. Tais partículas brotam da célula ainda imaturas, levando consigo partes da membrana celular para constituir um novo envelope^{33,34}. No meio extracelular, a enzima protease viral conclui os processos de maturação do vírus, os quais envolvem a clivagem dos polipeptídeos *gag* e *gag-pol*, tornando-o infeccioso e pronto para um novo ciclo replicativo³⁵.

1.1.4 História natural da doença e patogênese

A infecção pelo HIV cursa com um amplo espectro de apresentações clínicas, desde a fase aguda até a fase avançada da doença. Em indivíduos não tratados, estima-se que o tempo médio entre o contágio e o aparecimento da forma avançada da doença esteja em torno de dez anos³⁶. O esquema da história natural da doença é apresentado na Figura 4.

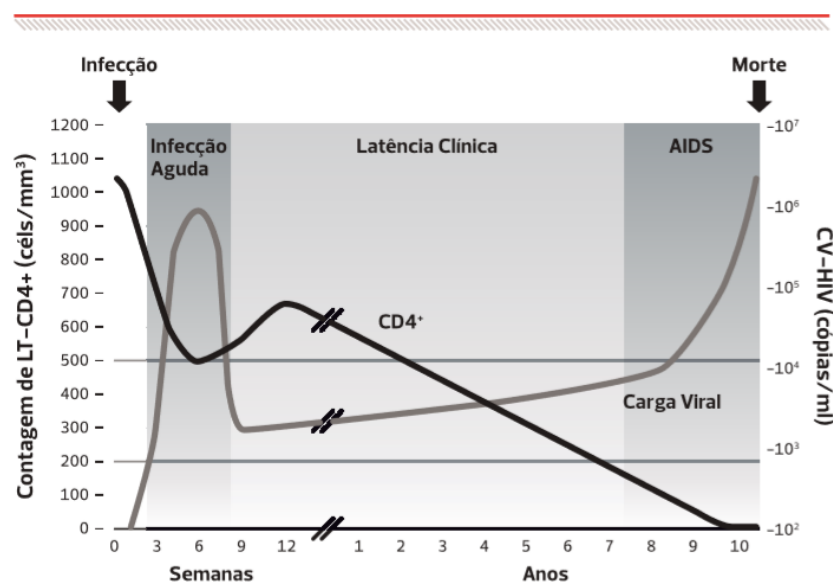


Figura 4. História natural da infecção pelo HIV-1. A fase aguda é marcada por uma alta viremia (linha cinza), uma queda importante da contagem de LT-CD4+ (linha preta). No início da fase de latência clínica a contagem de linfócitos T-CD4+ permanece acima de 350 células/mm³; porém, a evolução da doença e consequente destruição em massa de células CD4+ promovem a imunodeficiência avançada. Fonte: Adaptado de HIV Book 2015/2016³⁷.

A infecção aguda pelo HIV corresponde às primeiras semanas da infecção. Nesse período, as células infectadas, principalmente macrófagos, migram para tecidos linfoides, onde ocorre intensa replicação viral, e o contato direto entre células favorece a disseminação. Tem-se carga viral elevada e níveis decrescentes de linfócitos T-CD4⁺, pois a resposta imune adaptativa ainda não está desenvolvida³⁶. Nessa fase, a infecção pelo HIV acompanha um conjunto de manifestações clínicas, denominado síndrome retroviral aguda, que se apresenta entre a primeira e terceira semana após a infecção. Essas manifestações duram poucas semanas e são semelhantes aos de outras infecções virais, por isso a infecção pelo HIV comumente deixa de ser diagnosticada nessa fase inicial, período que o indivíduo é altamente infectante³⁶.

No início da fase de latência clínica, o sistema imune do hospedeiro começa a se sobressair e criar uma resposta contra a presença do vírus, fazendo com que a viremia diminua e a contagem de linfócitos aumente. Porém, à medida que a infecção progride, o sistema imune falha gradualmente, permitindo a replicação descontrolada do HIV-1, com consequente destruição em massa de células CD4⁺. Ocorrem os sintomas constitucionais (febre baixa, perda ponderal, sudorese noturna, fadiga), diarreia crônica, cefaleia, alterações neurológicas, infecções bacterianas (pneumonia, sinusite, bronquite), lesões orais e herpes-zoster. Assim, devido a incompetência do sistema imune em repor as células destruídas pelo HIV³⁶, instaura-se a AIDS, com a contagem de linfócitos T-CD4⁺ abaixo de 200 células/mm³, na maioria das vezes. Entre as infecções oportunistas que se manifestam destacam-se: pneumocistose, neurotoxoplasmose, tuberculose pulmonar atípica ou disseminada e meningite criptocócica. As neoplasias mais comuns são Sarcoma de Kaposi, linfoma não Hodgkin e câncer de colo uterino, em mulheres jovens³⁶.

Vários fatores são responsáveis por essa depleção de linfócitos T-CD4⁺. Células infectadas são destruídas pela citopatogenicidade do próprio vírus e por mecanismos líticos mediados por linfócitos T-CD8⁺³⁸. Além disso, há depleção de linfócitos T-CD4⁺ não infectados devido à intensa ativação imune, que induz a apoptose^{39,40} e o comprometimento da produção e diferenciação a partir da medula óssea e do timo também contribuem para a depleção⁴¹.

1.2 Tratamento da infecção pelo HIV

O tratamento é feito por meio da terapia antirretroviral, com a associação de fármacos cujo principal objetivo é suprimir a carga viral, diminuindo a probabilidade de transmissão e de infecção por doenças oportunistas e consequente morbidade e mortalidade, melhorando a qualidade e a expectativa de vida⁴²⁻⁴⁶. Para tanto, a terapia impede que o HIV-1 conclua o ciclo de replicação e maturação, com estratégias direcionadas a inibir as enzimas transcriptase reversa, integrase e protease, e impedir a fusão do envelope viral com a célula alvo^{33,46}. A Figura 5 esquematiza o ciclo replicativo do HIV-1 e os sítios alvos dos antirretrovirais.

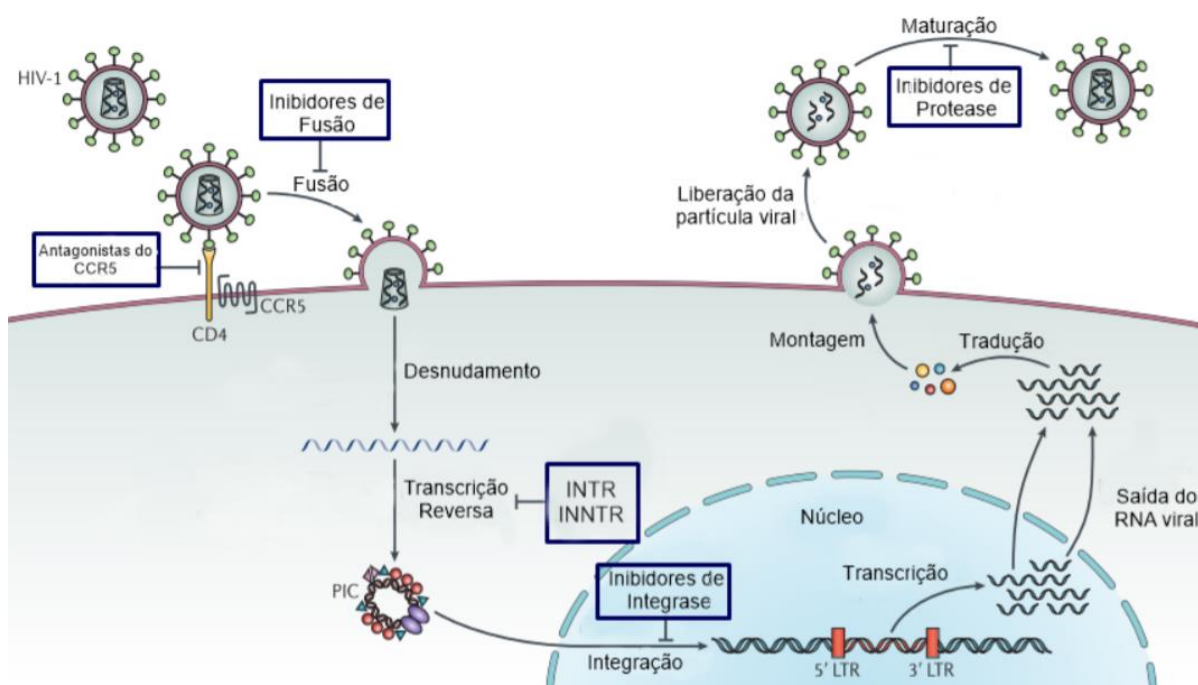


Figura 5: Mecanismo de ação dos antirretrovirais. Destacam-se os pontos aos quais cada classe de fármaco se liga durante o ciclo viral, impedindo assim a entrada do vírus, a transcrição e integração dele na célula hospedeira, bem como sua maturação, evitando a formação de novas partículas virais. Fonte: Adaptado de Barre-Sinoussi e cols., 2013⁴⁷.

Sem o tratamento, a maioria dos pacientes evolui para a imunodeficiência progressiva, acarretando manifestações de doenças definidoras de AIDS e consequente morte prematura. A supressão viral reduz o risco dessas complicações através da melhora da função imunológica⁴⁸. Assim, na prática clínica, a quantificação da carga viral e a contagem de linfócitos T-CD4⁺ são parâmetros utilizados para avaliar o curso da infecção e monitorar a terapia^{11,49,50}. Os antirretrovirais estão distribuídos

em seis classes de acordo com o sítio alvo e modo de ação: (1) Inibidores da transcriptase reversa; (2) Inibidores de Protease; (3) Inibidores de Integrase; (4) Inibidores de Fusão; (5) Inibidores de Entrada e os (6) Potencializadores Farmacocinéticos⁴⁰.

Os fármacos cujo alvo é a transcriptase reversa são os Inibidores análogos a Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (INTRs) e Inibidores não análogos a Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (INNTRs). Ambos são capazes de inibir a enzima e interromper o ciclo do vírus, embora por meios distintos: os INTRs interagem com o sítio catalítico da enzima, enquanto os INNTRs interagem com o sítio alostérico, localizado no sítio de ligação da enzima com seu substrato. Outra estratégia de ataque ao vírus é a mais recente classe de antirretrovirais, os inibidores de integrase, os quais atuam inibindo uma fase crucial do ciclo replicativo do HIV-1: a integração do DNA viral ao DNA da célula hospedeira. A fase de montagem e maturação das novas partículas virais também é alvo da terapia, sendo realizada pelos inibidores de protease que bloqueiam a protease viral, reduzindo a disseminação do vírus. Por fim, os inibidores de entrada que atuam por meio de competição pelos co-receptores; e os inibidores de fusão, que apresentam-se sob a forma de um peptídeo sintético da gp41, atuando, de forma competitiva, impedindo as interações necessárias à fusão entre as membranas viral e celular^{31,40}.

1.2.1 Farmacocinética da terapia antirretroviral

Para a ação dos antirretrovirais, é necessário que sejam submetidos aos processos de absorção, como o efeito de primeira passagem intestinal-hepática, distribuição, metabolismo e excreção, os quais determinam sua biodisponibilidade. Dessa forma, a superfamília de genes que codificam proteínas envolvidas nas vias farmacocinéticas dos antirretrovirais são componentes importantes da resposta antirretroviral. Podemos citar a família dos citocromos P450 (CYP) e das Uridinas difosfato Glicuronosil Transferases (UGTs), envolvidas nas etapas de fase I e fase II do metabolismo, respectivamente, e as famílias de transportadores por sítios de ligação de ATP (ABC) e transportadores de soluto (SLC)³³.

CYP1, CYP2 e CYP3 são as principais famílias de enzimas, pertencentes à grande família dos CYP, envolvidas nas reações de biotransformação de fase 1 de

muitos antirretrovirais, tornando-os passíveis de excreção na urina. Os genes que codificam as CYPs são expressos, principalmente, no fígado e são altamente polimórficos, apresentando várias isoformas. Entre elas, o citocromo P450 polipeptídeo 6 da família 2 e subfamília B (CYP2B6) que codifica a enzima CYP2B6, a qual metaboliza os INTR mais usados no tratamento anti-HIV, como por exemplo o efavirenz e a nevirapina³³. Destacam-se também as CYP3A4 e CYP3A5 envolvidas no metabolismo dos INTR e inibidores de protease. A superfamília UGT consiste nas enzimas das famílias UGT1 e UGT2, expressas principalmente no fígado. Promovem a glucuronidação, um passo importante na eliminação de compostos como bilirrubina e certos antirretrovirais, como zidovudina, raltegravir, abacavir, atazanavir e efavirenz³³.

A superfamília ABC (ATP-binding cassette) é composta por mais de 40 genes que codificam para proteínas transmembrana, as quais possuem domínios na porção citoplasmática onde o ATP se liga. Atuam transportando ativamente moléculas para fora das células, conferindo-lhes um papel de proteção contra substâncias estranhas e potencialmente tóxicas, inclusive medicamentos³³. No contexto da farmacocinética de antirretrovirais, as proteínas das subfamílias ABCB e ABCC assumem papel de suma relevância no efluxo de inibidores de protease e de alguns INTRs. Estão presentes em tecidos como intestino, barreira hematoencefálica, fígado e rins. Dessa forma, elas limitam a absorção de alguns antirretrovirais e a presença deles em reservatórios do HIV-1 (sistema nervoso central, testículos) e contribuem com a excreção dos antirretrovirais. Essas proteínas também estão presentes em linfócitos, contribuindo para a expulsão da droga das células alvo do vírus. Tais características conferem aos transportadores da família ABC o papel na resistência à terapia antirretroviral^{33,52}.

1.2.2 Da monoterapia à terapia antirretroviral altamente ativa

Até 1990 existiam poucas opções de tratamento para a infecção pelo HIV-1. O manejo clínico consistia principalmente na profilaxia de infecções oportunistas e em controlar as doenças relacionadas à AIDS. Em 1987, foi aprovado o primeiro antirretroviral para o tratamento de PVHA, a zidovudina^{53,54}. Entretanto, a ocorrência de efeitos adversos e a seleção de cepas virais com mutações de resistência comprometiam o sucesso da monoterapia⁵⁴. Isso impulsionou o desenvolvimento de novos fármacos, como o desenvolvimento de inibidores de transcriptase reversa e protease, a partir da década de 1990, e a introdução de estratégias de regimes que combinassem esses agentes para melhorar a eficácia terapêutica.

Nesse contexto, no ano de 1996 foi anunciado, na XI Conferência Internacional sobre AIDS, um novo “coquetel”. Composto pela combinação da zidovudina, lamivudina e a nova classe de inibidores de protease, esse coquetel foi determinante na redução da morbidade e mortalidade associada à infecção pelo HIV/AIDS; um marco na história da luta contra a doença^{54,55}. Esse avanço deu origem à terapia antirretroviral altamente ativa (HAART), que se caracteriza pela combinação de três ou mais drogas antirretrovirais, dirigidas contra pelo menos dois alvos moleculares do ciclo de replicação do vírus⁵⁶. A HAART reduz a carga viral plasmática para abaixo dos limites de detecção dos ensaios clínicos mais sensíveis (40 cópias RNA/mL) e, geralmente, resulta em uma recuperação significativa do sistema imunológico, medida por um aumento nos linfócitos T-CD4⁺ circulantes.

O Brasil, ao longo de décadas de epidemia, tem se destacado como um dos países modelos de tratamento, controle e atenção à AIDS, ao garantir, desde 1996, o acesso universal e gratuito aos serviços de saúde e aos medicamentos. Atualmente, 22 fármacos são disponibilizados pelo Sistema Único de Saúde. Inicialmente, o Protocolo Clínico de Diretrizes Terapêuticas para o Manejo de Infecção indicava o início da HAART para pacientes sintomáticos ou assintomáticos desde que apresentassem contagem de linfócitos T-CD4⁺ abaixo de 200 células/mm³⁵⁴. Esse valor de corte passou a ser de 350, depois de 500 células/mm³ e, atualmente, o início da terapia está recomendado para todas as pessoas infectadas, independentemente do seu estágio clínico e/ou imunológico³⁶. Uma questão importante relacionada ao início precoce da terapia é a redução do risco de morbidade e mortalidade quando o

paciente inicia o tratamento com a contagem de linfócitos T-CD4⁺ acima de 500 células/mm³ ^{57,58} e o fato de que a magnitude da recuperação imunológica está diretamente relacionada com a contagem dessas células no início da terapia⁵⁹⁻⁶². Essa mudança de critério surgiu como proposta para garantir o sucesso terapêutico, causando impacto direto e positivo na ambiciosa meta 90-90-90. Tal meta almeja que 90% das pessoas que vivem com HIV/AIDS conheçam seu estado, que 90% destas sejam medicadas e que 90% das pessoas em uso da HAART tenham a carga viral suprimida, mantendo-se saudáveis e reduzindo o risco de transmissão do HIV⁵⁴.

As diretrizes atuais recomendam que a terapia deve incluir, obrigatoriamente, combinações de, pelo menos, três antirretrovirais, sendo dois INTRs associados a uma outra classe de antirretrovirais (INNTR, inibidor de protease ou inibidor de integrase), preferencialmente o dolutegravir. No Brasil, em 2017, foi proposto um novo esquema de tratamento de primeira linha, tenofovir + lamivudina (INTRs) associados ao dolutegravir (inibidor de integrase).

Aproximadamente 90% dos adultos em tratamento possuem carga viral indetectável (número de cópias virais menor que 40) e a maioria destes reconstituem sua imunidade⁶³. Assim, além de retardar a progressão da doença, a implementação da HAART reduz o risco de transmissão, pois, com a carga viral suprimida, o risco de transmissão pela relação sexual é praticamente zero⁶⁴. Pode-se afirmar que a HAART mudou drasticamente a história natural da infecção pelo HIV, a qual passou de uma doença letal à uma infecção crônica. Contudo, essa cronicidade e a perspectiva do tratamento contínuo com multidrogas trouxeram uma série de desafios.

1.2.3 Desafios clínicos relacionados ao tratamento

Um dos principais desafios clínicos é a variabilidade interindividual no desfecho da terapia combinada. Tal variabilidade pode ser dirigida por fatores como sexo, idade, interações medicamentosas, comorbidades, resistência viral, adesão ao tratamento e fatores genéticos^{33,43,51,65}. Esses aspectos trazem uma série de outros desafios para a clínica, impactando diretamente no manejo dos pacientes^{66,67}.

1.2.3.1 Efeitos adversos à HAART

A efetividade da HAART frequentemente é prejudicada pelo desenvolvimento de efeitos adversos, os quais aumentam o risco de morbidade e mortalidade. Eles podem ser responsáveis pela não aderência adequada ao tratamento^{68,69}, além de contribuírem significativamente para o aumento dos custos associados ao tratamento da infecção⁶⁶. Mais de 25% dos pacientes descontinuam o regime inicial da HAART devido aos efeitos adversos⁷⁰.

Estudos demonstraram que, dependendo das características genéticas de um paciente, a terapia antirretroviral pode levar à uma maior ou menor predisposição à ocorrência de efeitos colaterais⁶⁵. Uma das razões para essa variabilidade interindividual é a presença de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) em genes que codificam para proteínas envolvidas nas vias farmacocinéticas dos antirretrovirais. Cada SNP representa uma alteração pontual de um único nucleotídeo, que pode resultar em consequências funcionais importantes para a atividade gênica, como a alteração do nível de expressão ou inclusive alterando o produto gênico. Com base nestes pressupostos, em 1959, Vogel designou o campo da farmacogenética, destinado à investigação da influência da variabilidade genética do indivíduo nas respostas medicamentosas⁷¹.

- Farmacogenética de Efeitos adversos

A farmacogenética, também conhecida como medicina de precisão, tem os estudos de associação como uma de suas principais ferramentas para identificar e caracterizar polimorfismos que possam estar associados à uma maior ou menor chance de expressar um fenótipo de interesse clínico⁴³. Com isso, a área coopera para as perspectivas de um tratamento otimizado através da personalização terapêutica, podendo evitar o tratamento inadequado e consistir numa ferramenta útil na tomada de decisão a respeito da escolha da terapia^{33,72,73}.

A farmacogenética está sendo estudada no âmbito da terapêutica do HIV devido ao longo prazo e a toxicidade do tratamento¹⁰. Com isso, a HAART tem sido beneficiada por ferramentas preditivas para identificar a combinação de fármacos mais provável de ser tolerada e eficaz^{33,72,74}. Um dos melhores exemplos dessa colaboração é a associação entre o alelo HLA-B*5701 e a reação de

hipersensibilidade induzida pelo abacavir⁷⁵⁻⁸⁰. Inclusive, no Brasil o protocolo para introdução do abacavir na HAART requer o teste para o alelo HLA-B*5701³⁶. Seguindo esse exemplo, vários estudos de associação farmacogenética foram realizados para diversos medicamentos da HAART, com o intuito de estabelecer uma associação entre marcadores genéticos e a susceptibilidade à manifestação de efeitos adversos à terapia, bem como sua eficácia.

Polimorfismos associados à reação de hipersensibilidade devido ao uso de abacavir

O abacavir é um INTR e causa uma reação de hipersensibilidade em aproximadamente 5% dos pacientes, a qual pode se apresentar com febre, náusea, exantema, mal-estar, distúrbios gastrointestinais e respiratórios^{76,77}; em casos raros pode ser fatal^{78,81}. Há fortes evidências de uma base imunológica para a reação de hipersensibilidade, refletida na presença de linfócitos T-CD8⁺ infiltrados na pele de pacientes com erupção cutânea⁸². Além disso, uma associação entre a reação de hipersensibilidade induzida pelo abacavir e a variante HLA-B*5701, no gene HLA-B do sistema antígeno leucocitário humano (localizado no cromossomo 6p21.33; OMIM 142830), sugere uma base genética para a reação^{76,77,83}. Um dos primeiros estudos registrou a presença do alelo HLA-B*5701 em 78% dos pacientes que apresentaram o fenótipo, contra apenas 2% do grupo controle⁸³. Em seguida, essa associação foi reproduzida em diversos estudos, impactando diretamente na prática clínica com a implementação do exame de tipificação do alelo HLA-B*5701, visando oferecer mais segurança na prescrição do abacavir³⁶.

Polimorfismos associados à disfunção tubular renal devido ao uso de tenofovir

O tenofovir é um INTR que faz parte do esquema de primeira linha para o tratamento da infecção pelo HIV no Brasil³⁶. Alguns estudos têm alertado sobre a disfunção tubular renal associada ao seu uso prolongado; entretanto, o mecanismo envolvido ainda não está bem esclarecido⁸⁴⁻⁸⁶. Sabe-se que esse medicamento é intensamente excretado pelos rins e que há alta variabilidade interindividual na

apresentação dos sinais e sintomas da disfunção. Por isso, pesquisas recentes têm investigado o papel de SNPs em genes que codificam para transportadores de drogas nas células tubulares renais, os quais podem predispor à disfunção renal associada ao tenofovir⁸⁷.

Polimorfismos associados a efeitos adversos no sistema nervoso central devido ao uso de efavirenz

Efavirenz é um INNTR comumente associado a efeitos adversos no sistema nervoso central, como depressão, tontura e alucinações⁸⁸. É metabolizado principalmente no fígado pela enzima CYP2B6, codificada pelo gene CYP2B6 (localizado no cromossomo 19q13.2; OMIM 123930)⁸⁹ (<https://www.pharmvar.org/gene/CYP2B6>). Polimorfismos que comprometem a atividade dessa enzima podem explicar, em parte, a grande variabilidade interindividual no nível plasmático de efavirenz e na susceptibilidade aos seus efeitos colaterais^{90,91}. Os primeiros registros sugerindo uma associação entre um polimorfismo no gene CYP2B6 e efeitos adversos no sistema nervoso central vieram de um estudo conduzido por Haas e cols.⁹². Neste estudo, a troca do nucleotídeo G pelo T na posição 516 do gene CYP2B6 (rs3745274), que causa a substituição do aminoácido glicina por histidina⁹⁰, estava associada aos sintomas (P= 0.036).

Polimorfismos associados à reação de hipersensibilidade devido ao uso de nevirapina

O principal efeito adverso associado à nevirapina, um medicamento INNTR, é a reação de hipersensibilidade, caracterizada muitas vezes por exantema (15 a 20% dos pacientes), hepatotoxicidade (20% dos pacientes) e febre^{70,93-96}. O mecanismo envolvido nesse processo ainda não está bem compreendido. Vários alelos do sistema antígeno leucocitário humano da classe I e II têm sido investigados. A associação entre a presença do alelo HLA-Cw*0401 (localizado no cromossomo 6p21.33; OMIM 177900) e o fenótipo foi sugerida em pacientes tailandeses, onde portadores desse alelo têm maior chance de manifestar essa reação⁹³. Nesse mesmo contexto, associações também estão sendo propostas para o alelo HLA-DRB1*01:01

(localizado no cromossomo 6p21.32; OMIM 142857)⁹⁷ e para outros alelos da classe I, tais como HLA-B*14, HLA-Cw*08^{98,99} e HLA-B*35:05⁹³.

Polimorfismos associados à hiperbilirrubinemia devido ao uso de atazanavir

A hiperbilirrubinemia é o principal efeito adverso desse inibidor de protease¹⁰⁰, cujo mecanismo subjacente é a inibição pelo atazanavir da enzima UGT1A1, responsável pelo metabolismo da bilirrubina^{101,102}. Embora a concentração plasmática deste medicamento esteja diretamente correlacionada com os níveis de bilirrubina, os estudos propõem que o risco de hiperbilirrubinemia grave aumenta mais ainda na presença do alelo UGT1A1*28 (rs8175347)¹⁰²⁻¹⁰⁴. Este polimorfismo consiste na inserção de uma repetição TA no promotor do gene UGT1A1 (localizado no cromossomo 2q37.1; OMIM 191740) tornando-o menos ativo que o alelo com apenas 6 repetições (UGT1A1*6). Dessa forma, indivíduos homocigotos para o alelo *28 possuem atividade diminuída da enzima UDP-glicuronosiltransferase e, conseqüentemente, níveis elevados de bilirrubina não conjugada¹⁰⁵.

1.2.3.2 Recuperação imunológica

No geral, com a introdução da HAART é esperado que se inicie um processo de reconstituição do sistema imune, com o aumento na contagem de CD4⁺. Entretanto, alguns estudos mostram que, aproximadamente, 20 a 40% dos pacientes em tratamento efetivo não alcançam uma contagem de CD4⁺ ideal. Isso significa que eles apresentam falha imunológica a despeito da supressão viral^{62,106-109}, consistindo em um desafio para a prática clínica. Esse processo de recuperação imune se dá em três fases. Na primeira, durante o primeiro ao sexto mês de HAART, a rápida redução na carga viral e a redistribuição de células CD4⁺ de memória dos órgãos linfóides para o sangue promovem um rápido aumento na contagem de CD4⁺, de 20 a 30 células/mm³ mensalmente. Esta fase é acompanhada pela redução na quantidade de citocinas inflamatórias, tais como o fator de necrose tumoral (TNF - α). Na segunda fase, que perdura até o fim do segundo ano de terapia, o incremento mensal de CD4⁺ continua, mas diminui, em torno de 5 a 10 células/mm³, à medida que novas células CD4⁺ são produzidas pelo timo. Após o segundo até o quarto ano, na terceira fase, o aumento

mensal é de 2 a 5 células/mm³. Segundo estudos, todo esse processo de recuperação imune contabiliza um valor absoluto de 350 a 500 células ao final de um período de 4 a 7 anos de tratamento^{63,107}.

As definições de recuperação imune ideal e de falha imune divergem entre diferentes estudos tanto em relação ao valor de CD4⁺ quanto em relação ao tempo em que este tipo de resposta deve ser verificado. Segundo a Organização Mundial de Saúde, são considerados em falha imune aqueles indivíduos que, após o início da terapia, os níveis de CD4⁺ se mantêm abaixo de 100 células/mm³ por aproximadamente seis meses¹¹⁰. Na literatura, alguns estudos apontam valores abaixo de 200 células/mm³ após 24 meses¹¹¹ ou abaixo de 500 células/mm³ após 4 anos de tratamento¹⁰⁷. Outros consideram quando a magnitude do aumento da contagem de células é inferior a 100 células/mm³ após 12^{112,113} ou 24⁶³ meses de tratamento; ou inferior a 200 células/mm³ após 24 meses de tratamento efetivo¹¹⁴. Consideram-se também valores inferiores a 100⁶⁰ ou 200 células/mm³^{60,115} dentro do primeiro ano de supressão viral, para a caracterização dos não respondedores imunológicos.

Embora essa falha imunológica seja um dos grandes desafios e represente o principal parâmetro para a progressão da AIDS, pouco se sabe sobre os fatores e mecanismos relacionados. Estudos têm demonstrado que é consequência, principalmente, da produção insuficiente e destruição excessiva de células CD4⁺, resultando em uma quebra da homeostase de linfócitos T-CD4⁺^{63,116}. Além disso, essa condição tem sido descrita com uma condição multifatorial^{63,116,117}, incluindo a baixa contagem de CD4⁺ no início do tratamento^{62,118,119}, citotoxicidade viral, idade avançada ao início da HAART, sexo masculino^{61,62,109}, atividade tímica reduzida^{41,113,120}, apoptose de CD4⁺^{39,40} e fatores genéticos^{91,121}. Vale reforçar que a incapacidade supracitada de reverter a imunossupressão tem sido um desafio na prática clínica. Ela está associada ao aumento do risco de progressão da doença e morte, devido às altas taxas de infecções oportunistas e por comorbidades não associadas à AIDS^{108,122–124}. Por isso, determinar os fatores que possam ser preditores da resposta imune à HAART é de suma importância. E com esse propósito, diversos estudos de associação imunogenética estão sendo executados.

- Imunogenética da recuperação imune durante a HAART

A imunogenética é o campo da ciência que estuda os aspectos genéticos associados à resposta imunológica. Dado o papel fundamental das citocinas no desencadeamento dessa resposta, genes que codificam para certas citocinas, além de outros genes envolvidos na resposta imunológica, são alvos de muitos estudos de associação imunogenética.

Polimorfismos associados à dinâmica dos linfócitos T-CD4⁺ durante a HAART

A literatura apresenta evidências de que variantes em genes que codificam para determinadas citocinas e enzimas envolvidas na metabolização de drogas estão associadas com a recuperação de CD4⁺ em pacientes durante o uso de HAART. Variantes em genes que codificam para TNF podem predispor os pacientes a um alto nível de ativação imune, induzindo a apoptose em células CD4⁺ ^{125–127}. A literatura registra que portadores do genótipo AA+AG do TNF- α -308G>A (localizado no cromossomo 5q23.1; OMIM 612111), apresentaram um aumento na atividade de TNF- α ¹²⁷ e no nível de apoptose de CD4⁺¹²⁶, sugerindo a associação do alelo A com a progressão de diversas doenças.

Outras variantes consistentemente associadas com a recuperação imune em pacientes em uso de HAART estão presentes nos genes CYP2B6 e ABCB1 (localizado no cromossomo 7q21.12; OMIM 171050) envolvidos no metabolismo de muitas drogas que constituem esquemas antirretrovirais. Muitos estudos investigaram o SNP não sinônimo CYP2B6 516G>T, que leva a um *splice* aberrante diminuindo a expressão e função da enzima¹²⁸. Observaram que o grupo genotípico T/T estava associado a uma melhor recuperação imune quando comparado ao grupo GG^{112,129}. Outros trabalhos investigando a associação da mutação sinônima ABCB1 3435C>T com a recuperação imune, observaram que pacientes com o genótipo TT apresentaram uma contagem de CD4⁺ maior do que pacientes CT e CC^{91,130}.

Diante do exposto, em relação ao SNP ABCB1 3435C>T (rs1045642) a hipótese do estudo era que a presença do genótipo TT estivesse associada à uma maior contagem de linfócitos T-CD4⁺. Isso porque a baixa expressão de glicoproteína-P duodenal em indivíduos TT¹³¹ leva à maior biodisponibilidade de antirretrovirais e,

portanto, à melhor resposta. Além disso, o genótipo TT está associado à redução da glicoproteína-P em células suscetíveis ao HIV^{52,131}, a qual permitiria uma maior penetração de antirretrovirais.

No tocante ao CYP2B6 516G>T (rs3745274), sabe-se que o genótipo TT leva à menor expressão da enzima CYP2B6 quando comparado ao GG e GT¹³² e, assim, à maior exposição ao efavirenz^{133,134}. Com isso, no geral, esperava-se que o genótipo TT estivesse associado à alguma resposta significativa à HAART. Uma das possibilidades era que a manifestação de reações adversas ao efavirenz interferissem na adesão ao tratamento e, portanto, no processo de recuperação imune. Por fim, quanto aos SNPs no gene TNF- α (-308G>A rs1800629 e -238G>A rs361525), a hipótese era que os alelos associados ao aumento na expressão do gene, também estivessem associados à menor contagem de CD4⁺ na amostra.

1.3 Estudos de associação genética secundários

A revisão sistemática é um estudo secundário que reúne em um único trabalho todos os resultados e recentes avanços, obtidos por meio de estudos primários (ou estudos originais), sobre uma área de pesquisa. Na escala hierárquica dos níveis de evidências as revisões sistemáticas com metanálise são consideradas o maior nível. A metanálise realiza uma síntese estatística dos dados e resultados numéricos dos trabalhos encontrados pela revisão sistemática, com o objetivo de determinar o efeito estimado de uma intervenção¹³⁵. Seu uso permite analisar as diferenças metodológicas que expliquem as inconsistências e conflitos entre estudos primários, avaliar a qualidade destes e propor padrões para futuras pesquisas.

O forest plot é a representação gráfica da metanálise. Na Figura 6, os estudos são representados por uma linha horizontal com um sinal no centro. A posição do sinal representa a medida de efeito do estudo, e o seu tamanho representa o peso de cada amostra em relação às outras. O tamanho da linha está diretamente relacionado com o intervalo de confiança da estimativa. O losango é a representação da medida de efeito da metanálise (centro), e a sua largura é o intervalo de confiança. A linha vertical representa a ausência de efeito; caso um intervalo de confiança toque nesta linha, significa que o estudo não encontrou diferença entre as intervenções¹³⁶.

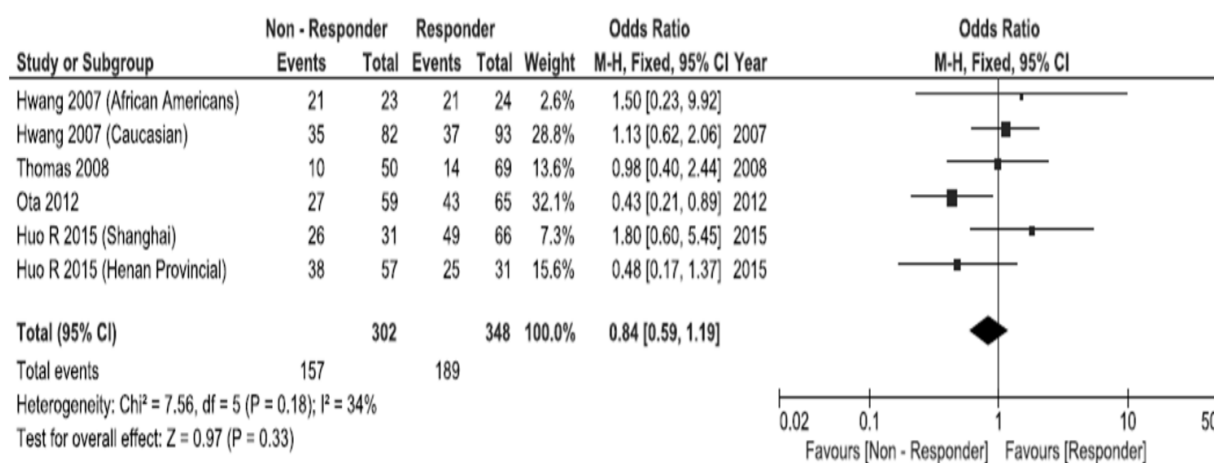


Figura 6: Representação gráfica do resultado de metanálise através do forest plot¹³⁶.

1.4 JUSTIFICATIVA

A melhor compreensão acerca da contribuição genética sobre a resposta à HAART pode beneficiar o manejo clínico dos pacientes por meio do desenvolvimento de ferramentas preditivas para identificar a combinação de fármacos mais provável de ser tolerada e eficaz. É importante reforçar que a baixa contagem de linfócitos T-CD4⁺ apresenta-se como principal parâmetro na progressão para a AIDS, estando associada à maior incidência de infecções oportunistas e comorbidades. Assim, fornecer subsídios para o desenvolvimento de marcadores genéticos capazes de identificar pacientes com maior susceptibilidade a efeitos adversos e à falha imunológica é de suma importância.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar se fatores clínicos, epidemiológicos e genéticos estão associados aos desfechos clínicos em pacientes portadores do HIV-1, durante o uso de HAART.

2.2 Objetivos específicos

2.2.1 Avaliar a existência de associação genética para a manifestação de fenótipos clinicamente relevantes durante o uso da HAART, em pacientes portadores do HIV-1, por meio de uma revisão sistemática seguida de metanálise.

2.2.2 Avaliar a existência de associação entre variáveis clínicas/epidemiológicas/genéticas e a recuperação imunológica de pacientes portadores do HIV-1 em uso da HAART, cadastrados no Centro ambulatorial especializado Edgard Pita, em Barreiras – Ba:

2.2.2.1 Caracterizar o perfil clínico e epidemiológico dos pacientes;

2.2.2.2 Caracterizar a dinâmica da recuperação imunológica dos pacientes;

2.2.2.3 Avaliar se os SNPs ABCB1 3435C>T, TNF- α -308G>A, TNF- α -238G>A e CYP2B6 516G>T estão associados ao processo de recuperação imune;

2.2.2.4 Avaliar se variáveis clínicas e epidemiológicas estão associadas com a recuperação imune.

3. METODOLOGIA

3.1 Descrição do estudo

Este trabalho consiste em um estudo de associação genética no qual foi investigado a existência de associações entre possíveis marcadores genéticos e a resposta clínica durante a HAART. Para tanto, foi realizada uma revisão sistemática/metanálise que, por meio de uma abordagem farmacogenética, investigou qualquer fenótipo de interesse clínico ao uso de HAART, como a ocorrência de efeitos adversos, falha virológica e recuperação imunológica. Além disso, foi executado um estudo primário, que focou no processo de recuperação imune durante a HAART (Figura 7).

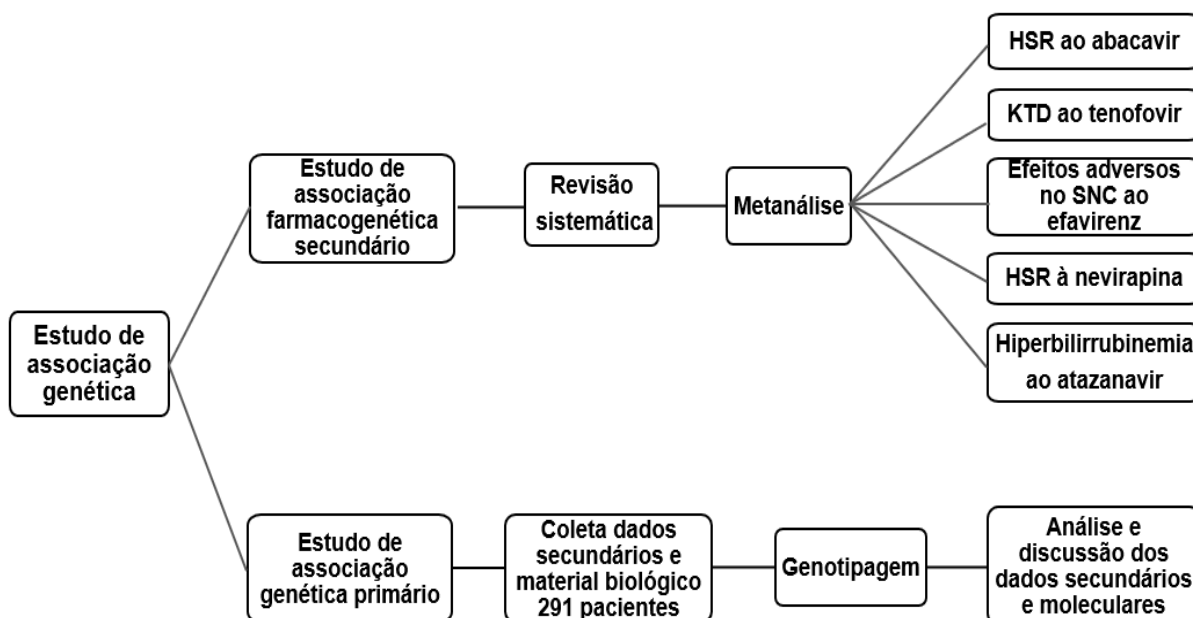


Figura 7: Fluxograma ilustrando as etapas gerais do trabalho.

3.2 Estudo de associação farmacogenética secundário

3.2.1 Revisão sistemática

O PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses)¹³⁷ foi adotado para registrar essa revisão sistemática. A seleção dos estudos foi realizada em três fases: identificação, triagem e elegibilidade. A

identificação foi realizada, inicialmente, por meio de buscas no PubMed/MEDLINE, incluindo todos os artigos publicados até novembro de 2018, encontrados com os termos inclusos no argumento 1 (Apêndice 1). Em um segundo momento, foram realizadas novas buscas gerando um argumento para cada fenótipo investigado, como consta no Apêndice 1. Não houve restrições quanto ao idioma, data e local de publicação. Artigos de revisão foram excluídos, porém, outros artigos foram encontrados e incluídos a partir da consulta às referências das revisões. A segunda fase da revisão sistemática, denominada triagem, foi realizada lendo os resumos e, finalmente, a elegibilidade foi feita pela leitura completa do artigo. Foram selecionados apenas estudos de associação genética primários. Utilizando uma planilha de excel estruturada, os seguintes dados foram extraídos: classe das drogas, droga, fenótipo investigado, primeiro autor, ano de publicação, tamanho da amostra, etnia, gene e polimorfismo. Os autores de estudos com dados ausentes foram contactados.

3.2.2 Metanálise

A metanálise foi realizada utilizando o software estatístico R (versão 3.5.3) usando o pacote “meta”. Os estudos foram analisados segundo os modelos de efeito fixo e aleatório. Heterogeneidade entre os estudos foi avaliada pelo teste qui-quadrado. As razões de chance foram combinadas pelo método de Mantel-Haenszel utilizando como peso o inverso da variância em um modelo aleatório, com intervalo de confiança (IC) de 95%. A metanálise foi realizada assumindo os modelos de efeito alélico e genotípico (modelo recessivo e dominante), quando possível. Nível de significância foi de 0.05.

Os critérios de inclusão na metanálise foram os seguintes:

1. o fenótipo e o respectivo polimorfismo terem sido analisados por 3 ou mais estudos;
2. homogeneidade quanto aos critérios para definição do fenótipo e/ou definição de grupo caso;
3. o estudo apresentar dados para pelo menos um dos três modelos genéticos da análise;
4. estudos em que o grupo caso tenha sido comparado a um grupo com perfil adequado para a realização de um estudo de associação.

3.3 Estudo de associação genética primário

3.3.1 Desenho do estudo e questões éticas

Este trabalho constitui em um estudo de caráter observacional e retrospectivo, no qual busca-se a identificação de fatores de risco depois do diagnóstico de determinado caso clínico em um grupo de indivíduos¹³⁸. Os portadores do HIV-1 envolvidos contribuíram com uma amostra de sangue periférico e consentiram com o fornecimento de dados dos prontuários, mediante assinatura de um termo de consentimento livre e esclarecido (Apêndice 2). O delineamento metodológico do estudo recebeu aprovação prévia do Comitê de ética em pesquisa com seres humanos da Universidade Federal do Oeste da Bahia (CAAE: 67848517.9.0000.8060) (Anexo A).

3.3.2 Descrição da amostra e critérios de inclusão e exclusão

Foram recrutados 324 pacientes cadastrados no Serviço ambulatorial especializado Edgard Pita em Barreiras-Ba que preencheram aos seguintes critérios:

Critérios inclusão para o estudo:

- pacientes soropositivos para o HIV;
- maiores de 18 anos de idade;
- estar em tratamento corrente com antirretrovirais ou iniciando o tratamento.

Critérios exclusão para o estudo:

- pacientes com sorologia negativa ou não confirmada para o HIV;
- pacientes soropositivos para HIV sem histórico de tratamento de antirretrovirais;
- gestantes e usuários de drogas ilícitas;

A seleção inicial dos pacientes foi realizada segundo a demanda do centro, ou seja, os indivíduos que compareceram para a realização dos exames de rotina entre o período de janeiro a julho de 2018 foram apresentados à pesquisa. Dos 324 pacientes recrutados, 23 foram excluídos devido a dados ausentes nos prontuários e 10 por problemas durante a extração do DNA.

3.3.3 Procedimentos para a coleta de material biológico e de dados.

Os voluntários doaram 4 mL de sangue periférico que foi coletado em tubos a vácuo com anticoagulante (EDTA). Os tubos foram congelados a -20°C até o momento da extração do DNA. Sob supervisão da equipe responsável pelo acompanhamento dos pacientes, foi realizada uma análise retrospectiva dos prontuários, durante o período de maio a outubro de 2018. As informações epidemiológicas foram coletadas de um formulário, no qual a ancestralidade foi autodeclarada. Variáveis de interesse coletadas: idade, sexo, ancestralidade, data do diagnóstico de HIV-1; esquemas HAART ministrados, contagens de carga viral e de células T-CD4⁺, dentre outras. Foi criado um banco de dados com essas informações.

3.3.4 Extração de DNA e Genotipagem

A extração do DNA genômico foi realizada de acordo com adaptações do protocolo desenvolvido por Miller e cols.¹³⁹. Foram transferidos 4 mL de sangue para um tubo Falcon de 15 mL e adicionado tampão Ery-Lyse até o volume de 15ml. Os tubos foram incubados no gelo por 20 minutos, para a lise das células. A centrifugação foi realizada a 1.500 (rcf) por 10 min; descartou-se o sobrenadante e acrescentou-se ao pellet mais tampão Ery-Lyse até o volume de 15ml. Os tubos foram centrifugados a 1.500 g por 10 min e o sobrenadante foi descartado, tirando todo o excesso do líquido e mantendo apenas o pellet branco (apenas leucócitos, livre de hemácias). Foram adicionados, em cada tubo, 2ml da solução SE, 100 μL de SDS e 12 μL de Proteinase-K, homogeneizados no vortex até o pellet desfragmentar. Os tubos foram incubados em banho-maria a 56°C overnight. Após a incubação, foram adicionados 700 μL da solução NaCl em cada tubo, homogeneizando-os intensamente no vortex. Os tubos foram centrifugados a 5000 rpm por 10 minutos, e o sobrenadante, contendo o DNA, foi transferido para outro tubo. Foram adicionados ao sobrenadante 3ml de etanol absoluto gelado e misturados por inversão para precipitação do DNA. Em seguida, foi utilizado Etanol 70% gelado para lavar o pellet e remover o DNA, o qual foi transferido para um microtubo e ressuspendido com 300 μL de solução TE.

A genotipagem dos SNPs ABCB1 3435C>T (rs1045642), CYP2B6 516G>T (rs3745274), TNF- α -308G>A (rs1800629) e TNF- α -238G>A (rs361525) foi realizada através da tecnologia de PCR em tempo real com sondas TaqMan, utilizando a

plataforma ABI 7500 (Applied Biosystems). Foi executado o seguinte protocolo: desnaturação inicial a 95°C por 10 min, seguida por 40 ciclos de amplificação (desnaturação a 95°C por 15 s e anelamento/extensão a 60°C por 1 min). A genotipagem foi repetida em 10% das amostras como um procedimento de controle de qualidade. Os genes e polimorfismos candidatos foram selecionados através de busca na literatura e por critérios funcionais. A Tabela 1 relaciona todas as variantes estudadas.

Tabela 1: Relação de genes e variantes estudadas, suas Sequências de Referência (do inglês Reference Sequence, RefSeq), tipo de mutação; os códigos das sondas e a aplicação funcional.

Genes	RefSeq	Variante s	Código Sonda	Tipo mutação	Aplicação funcional gene	Aplicação funcional SNP
ABCB1	rs1045642	3435C>T	C_7586 657_20	Sinônima em éxon	Expressão glicoproteína-P ¹⁴⁰ / Metabolismo de antirretrovirais ³¹	TT ↓ expressão glicoproteína-P duodenal ¹³¹ , ↑ biodisponibilidade antirretrovirais ³³ ; ↑ CD4 ⁺ 83
CYP2B6	rs3745274	516G>T	C_7817 765_60	Não sinônima em éxon	Metabolismo EFZ ⁸⁹	TT ↓ expressão ¹³² ; ↓ CD4 ⁺ 141; ↑ concentração EFZ ^{133,134}
TNF-α	rs1800629	_308G>A	C_7514 879_10	Região promotora	Ativação imune e apoptose CD4 ¹²⁵	AA e AG ↑ atividade TNF-α ¹²⁷ ; ↑ apoptose CD4 ⁺ 126
	rs361525	-238G>A	C_2215 707_10			

Os SNPs analisados apresentaram a frequência do alelo minoritário maior do que 5%, de acordo com o banco de dados do Projeto 1000 genomas, nas amostras representativas da população global e descendentes de africanos (à exceção do rs361525) e de acordo com Applied Biosystems em caucasianos (Tabela 2).

Tabela 2: Frequências dos alelos minoritários nos SNPs analisados de acordo com o Projeto 1000 genomas nas amostras representativas de descendentes de africanos e da população global, e de acordo com Applied Biosystems para caucasianos.

Genes	RefSeq	Alelos	Alelo minoritário	Frequência Projeto genoma 1000		Applied Biosystems Caucasianos
				Africanos	Global	
ABCB1	rs1045642	C;T	T	0.15	0.40	0,41
CYP2B6	rs3745274	G;T	T	0.37	0.32	0,17
TNFα	rs1800629	G;A	A	0.12	0.09	Não disponível
	rs361525	G;A	A	0.04	0.06	

3.3.5 Análise dos dados e Estatística

O fenótipo investigado foi a recuperação imunológica de pacientes com HIV em uso de HAART, o qual baseou-se na contagem contínua de linfócitos T-CD4⁺ ao longo do tempo (calculado com base nas datas dos exames laboratoriais). Este estudo investigou se as variáveis clínicas, epidemiológicas (carga viral, contagem basal de CD4⁺, tratamento, sexo, idade e ancestralidade) e genéticas estão associadas ao processo de recuperação imune. A cinética de CD4⁺ foi avaliada considerando dois períodos: 1. Tempo de acompanhamento, compreendido entre a data do primeiro ao último exame disponível (cujos resultados das análises constam no Apêndice 3) e 2. Tempo de tratamento, período entre a data de início da HAART (contagem CD4⁺ basal) ao último exame disponível. Os primeiros dados coletados datam de 1997 e, desde então, houve mudanças significativas nos critérios de início da HAART e, por isso, uma variabilidade entre os indivíduos no que diz respeito ao intervalo de tempo entre o diagnóstico e início efetivo da HAART. Assim, para a cinética da recuperação de CD4⁺ foi considerado o período entre o início do tratamento e manutenção da terapia (“Tempo de tratamento”), período máximo de dez anos.

Para este estudo definiu-se como: - Contagem de linfócitos T-CD4⁺ ao diagnóstico e Carga viral ao diagnóstico, os valores do primeiro exame disponível nos prontuários; - Contagem basal de linfócitos T-CD4⁺ e Carga viral basal, os valores no início da HAART; - Última contagem de linfócitos T-CD4⁺ e Última carga viral, com base no último exame disponível. Não foram contabilizadas as contagens basais de CD4⁺ de pacientes os quais já faziam uso de antirretrovirais na data do primeiro exame disponível.

Foram estabelecidos pontos de corte de CD4⁺ ao diagnóstico de “ ≤ 200 células/mm³” e “ ≤ 350 células/mm³” para identificar a proporção de pacientes que se apresentaram tardiamente aos cuidados (seguindo as definições propostas pelo “European Later Presenter Consensus Working group”¹⁴²). Considerou-se como carga viral indetectável os valores de carga viral < 40 cópias/ml. Foram utilizadas somente cargas virais que foram capazes de serem mensuradas em escala quantitativa. Assim, foram excluídos três exames por apresentarem cargas virais superiores ao limite máximo de detecção do equipamento. No ambulatório analisado, aproximadamente a cada 6 meses era feito o acompanhamento com carga viral e CD4⁺, período no qual

eram registrados os medicamentos que o indivíduo estava em uso. Com isso, o número total de observações foi de 3.820, referentes aos 291 pacientes recrutados, e todos os esquemas utilizados constam na Tabela S1.

Os cálculos das frequências alélicas e genóticas e a verificação do equilíbrio de Hardy-Weinberg foram realizados pelo teste qui-quadrado, implementado no pacote SNPassoc do programa R. Os dados contínuos foram apresentados como média, mediana e desvio padrão e os dados categóricos como frequência e proporções. Para melhor compreensão do processo de recuperação imune, foi implementado o modelo linear de efeito aleatório para dados longitudinais (função lme - pacote nlme do programa R), o qual explorou todos os valores de CD4⁺ de cada indivíduo durante o período de análise. Esse mesmo modelo foi implementado para analisar a contribuição de cada variável clínica e epidemiológica na dinâmica de CD4⁺, para obtenção dos coeficientes. Do mesmo modo, para analisar a contribuição genética, no qual foram criados diferentes modelos genotípicos (codominância, dominância, recessividade, aditividade e heterozigosidade) para verificar qual deles melhor explicaria o fenótipo. A carga viral foi analisada na escala logarítmica. Um modelo linear de efeito aleatório multivariado – inicialmente ajustado com variáveis que alcançaram um valor de $p < 0,2$ nos modelos univariados – foi implementado para prever a média das contagens de CD4⁺ durante a HAART. Todas as análises deste estudo foram realizadas no software R para Windows (versão 3.5), e as associações consideradas nominalmente significantes ao $p < 0,05$. Os valores de p são apresentados com no máximo 4 casas decimais.

4. RESULTADOS

4.1 Revisão sistemática com Metanálise

Por meio da busca na literatura, 916 artigos foram encontrados e 53 artigos foram adicionados através de outras fontes. Após a remoção das duplicatas, ficaram 943 artigos. Estes passaram pela triagem, na qual foram excluídos 794 artigos pelo fato de não serem estudos de associação primários para os fenótipos investigados. Foi realizada a elegibilidade (leitura completa) dos 149 artigos remanescentes, a qual selecionou 112 para compor a revisão sistemática. Destes, 37 artigos foram inclusos na metanálise com base nos critérios preestabelecidos (Figura 8).

As tabelas a seguir (Tabela 3 - 8) mostram as características dos 112 estudos incluídos na revisão sistemática. Todos foram publicados entre 2002 e 2018 e 22% deles investigaram populações com ancestralidade miscigenada, 23% com ancestralidade africana, 22% ancestralidade europeia, 8% ancestralidade asiática, 19% outras ancestralidades (dentre os quais 7 foram conduzidos com a população brasileira) e 5% não informaram a ancestralidade de suas populações.

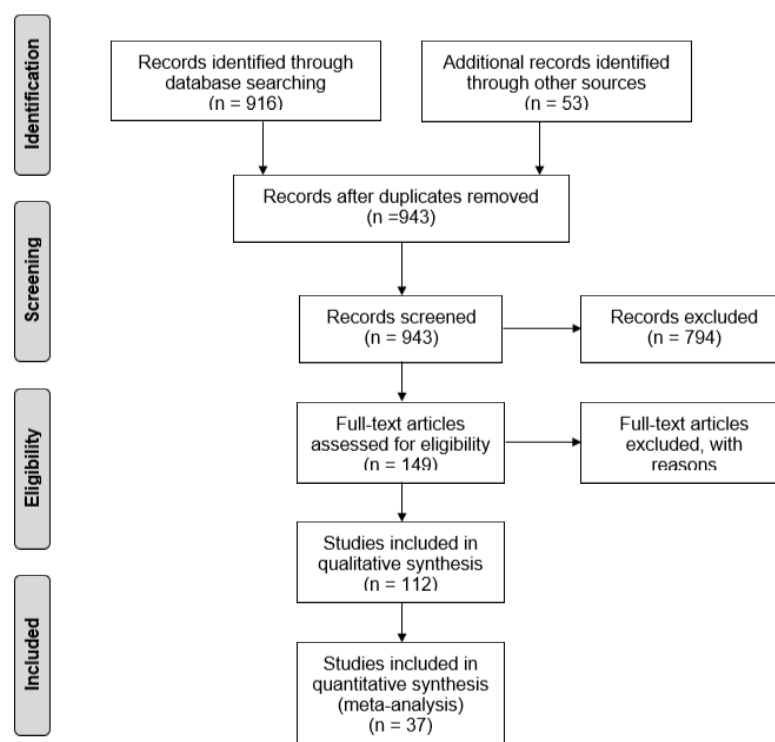


Figura 8: Diagrama de fluxo (PRISMA)

Por meio dessa revisão sistemática, foram categorizados 27 fenótipos relacionados à resposta clínica à terapia antirretroviral. Entretanto, em decorrência dos critérios preestabelecidos, foram incluídos na metanálise apenas os seguintes fenótipos: (1) reação de hipersensibilidade induzida pelo abacavir; (2) disfunção tubular renal induzida pelo tenofovir; (3) efeitos adversos no sistema nervoso central induzidos pelo efavirenz; (4) reação de hipersensibilidade induzida pela nevirapina e (5) hiperbilirrubinemia induzida pelo atazanavir.

4.1.1 Farmacogenética do abacavir

- **Revisão sistemática da farmacogenética do abacavir**

Os estudos incluídos (n=13) foram publicados entre 2002 e 2018 e investigaram a reação de hipersensibilidade ao abacavir. Observou-se grande heterogeneidade quanto à ancestralidade (Tabela 3).

Tabela 3. Revisão sistemática de estudos de associação farmacogenética da resposta clínica à terapia contendo abacavir.

Fenótipo	Autores	Ancestralidade	Amostra (caso/controlado)	Gene	Variante
Reação de hipersensibilidade	Hetherington <i>et al.</i> , 2002 ⁷⁷	North America (whites, blacks, caucasians,	197(84/113)	HLA-B	HLA-B*5701
	Mallal <i>et al.</i> , 2002 ⁸³	caucasoid (176); Africans (7); indigenous Australians (11); Asians (6)	185(18/167)	HLA-B	5701
				HLA-DR	DR7
				HLADQ	DQ3
	Martin <i>et al.</i> , 2004 ¹⁴³	Western Australian	248(18/230)	HLA-B	HLA-B*5701
	Hughes <i>et al.</i> , 2004 ¹⁴⁴	Whites, blacks, hispanics	719(348/371)	HLA-B	HLA-B*5701
	Rauch <i>et al.</i> , 2006 ¹⁴⁵	Western Australian	148(1/147)	HLA-B	HLA-B*5701
	Rodriguez-Novoa <i>et al.</i> , 2007 ¹⁴⁶	Hispanics (whites)	53(26/27)	HLA-B	HLA-B*5701
	Sun <i>et al.</i> , 2007 ⁸¹	Taiwan	208(3/205)	HLA-B	HLA-B*5701
				HLA-A	SI
				HLA-Cw	SI
				HLA-DR	HLA-DR7
				HLA-DQ	HLA-DQ3
	Saag <i>et al.</i> , 2008 ⁷⁵	US white and black	555(147/408)	HLA-B	HLA-B*5701
	Mallal <i>et al.</i> , 2008 ⁷⁹	19 countries	847(66/781)	HLA-B	HLA-B*5701
Colombo <i>et al.</i> , 2008 ¹⁴⁷	European ancestry	108(25/83)	HLA complex P5	HLA complex P5	
Crovella <i>et al.</i> 2011 ¹⁴⁸	European-derived; African-	96	HLA B	HLA B*5701	
			HLA B	HLA B*5701	
Chakravarty <i>et al.</i> , 2016 ¹⁴⁹	Indian	101	HLA-B	HLA-B*5701	
Manghani <i>et al.</i> , 2018 ¹⁵⁰	Indian	100(2/98)	HLA-B	HLA-B*5701	

- **Metanálise da reação de hipersensibilidade induzida pelo abacavir**

Dentre os SNPs analisados para este fenótipo, apenas o HLA-B*5701 foi incluso na metanálise (Figura 9).

Reação de hipersensibilidade induzida pelo abacavir associada ao alelo HLA-B*5701

A presença do alelo HLA-B*5701 foi comparada entre pacientes com (grupo *HSR*) e sem (grupo *control*) reação de hipersensibilidade (Figura 9). Nove estudos foram incluídos na metanálise^{75,77,79,81,83,143,145,150,151}, compreendendo uma amostra de 2.533 pacientes. O resultado indica associação do HLA-B*5701, na qual a presença de ao menos uma cópia do alelo (*5701/_) aumenta em 27,51 vezes a chance de apresentar o fenótipo (O.R.=28,51; I.C.=9,95-81,71).

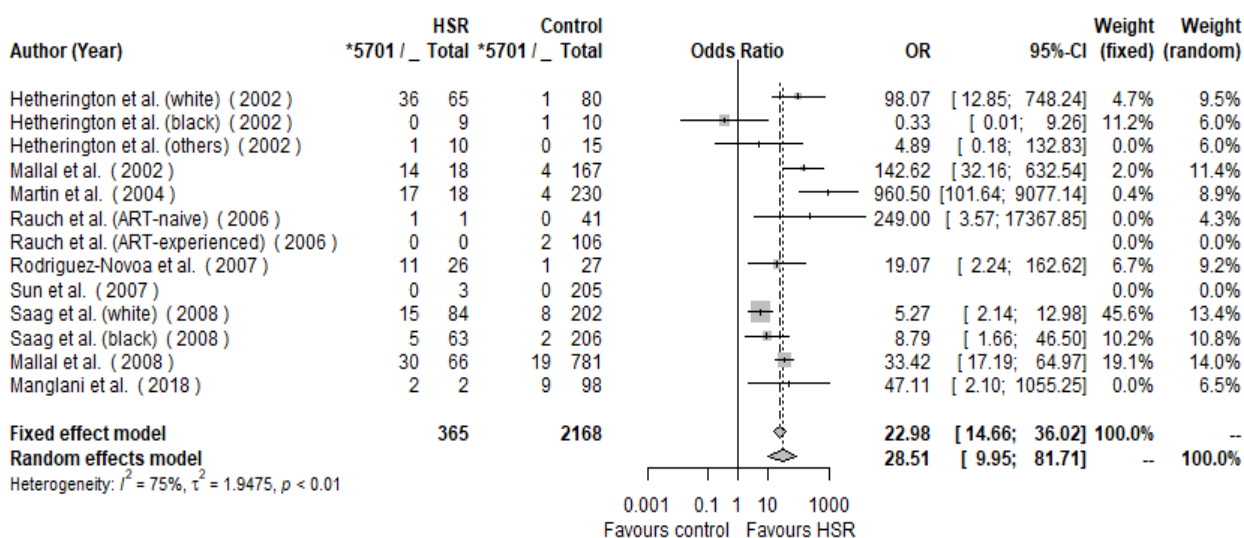


Figura 9: Metanálise da associação entre a presença do alelo HLA-B*5701 e HSR (reação de hipersensibilidade) induzida pelo abacavir.

4.1.2 Farmacogenética do tenofovir

- **Revisão sistemática da farmacogenética do tenofovir**

Os estudos incluídos (n=11) foram publicados entre 2006 e 2018. Também foi observada grande heterogeneidade quanto à ancestralidade (Tabela 4). Com relação aos dois fenótipos encontrados, apenas a disfunção tubular renal preencheu os critérios para a metanálise.

Tabela 4. Revisão sistemática de estudos de associação farmacogenética da resposta clínica à terapia contendo tenofovir (SI: sem informação).

Fenótipo	Autores	Ancestralidade	Amostra (caso/controlado)	Gene	Variante
Disfunção tubular renal	Izzedine <i>et al.</i> , 2006 ¹⁵²	White (29); African descent (1)	30 (13/17)	ABCC2	1249G>A -rs227369; 3563A -rs8187694; 4544A -rs8187710
				ABCB1	3435C>T -rs1045642; 2677G>T/A -rs2032582; 1236G>T -rs1128503
				ABCB2	-24C>T -rs717620
				ABCC4	669C>T -rs899494; 559G>T -rs11568658; 912G>T -rs2274407; 951G>A -rs2274406; 969G>A -rs2274405; 1497C>T -rs1557070; 3310T>C -rs11568655; 3348A>G -rs1751034
	Rodríguez-Novoa <i>et al.</i> , 2009 ¹⁵³	Whites, blacks, others	115 (19/96)	ABCC2	-24CC -rs717620; 1249 G>A -rs2273697; 3563 T>A -rs8187694; 3972 C>T -rs3740066; 4544 G>A -rs8187710
				ABCC4	669 C>T -rs899494; 3463 A>G -rs1751034; 4131 T>G -rs3742106
				ABCB1	3435C>T -rs1045642; 1236 C>T -rs1128503
				SLC22	453b
	Pushpakom <i>et al.</i> , 2011 ¹⁵⁴	SI	115 (19/96)	ABCC2	rs717620; rs2273697; rs3740066
				ABCC1	alelo G -rs9349256; alelo C -rs2125739
	Nishijima <i>et al.</i> , 2012 ⁸⁷	Japanese	190(19/171)	ABCC2	-24CC -rs717620; 1249AA -rs2273697; 2366C>T -rs56220353; 2934G>A -rs3740070
				ABCB1	2677T>A/G -rs2032582
				ABCC1	526G>A -rs9349256; 2759T>C -rs2125739
				ABCC4	4135T>G -rs3742106; 559G>T -rs11568658; 912G>T -rs2274407; 2269G>A -rs3765534; 3348A>G -rs1751034; 4135T>G -rs3742106; 4976T>C -rs1059751
	Giacomet <i>et al.</i> , 2013 ¹⁵⁵	SI	2	ABCC2	1249G>A(rs2273697); -24C>T(rs717620)
				ABCC4	C>T(rs899494)
				ABCC1	T>C(rs2125739)
	Dahlin <i>et al.</i> , 2015 ¹⁵⁶	US and Canada	55(19/36)	ABCC2	rs2273697; rs8187710; rs79174032; rs8187707; rs 11597282; rs17222519; rs7899457; rs17216177; rs17216282;
				ABCC4	rs899494; rs2274409; rs2274405
	Nishijima <i>et al.</i> , 2015 ¹⁵⁷	Japanese	703 (126/577)	ABCC2	24 -rs717620; 1249 -rs2273697
ABCB1				2677 -rs2032582	
Likansakul <i>et al.</i> , 2016 ¹⁵⁸	Thailand	273 (54/219)	ABCC2	-24C>T(rs717620); 1249G>A(rs2273697)	
			ABCC4	4976T>C(rs1059751)	
Salvaggio <i>et al.</i> , 2017 ¹⁵⁹	Caucasian; Non-Caucasian(5%)	158 (42/116)	ABCC4	3463 A>G -rs1751034	
			ABCC2	-24C>T -rs717620	
			ABCC1	T>C -rs2125739	
Danjuma <i>et al.</i> , 2018 ¹⁶⁰	White	58(15/43)	ABCC2	rs717620	
			ABCC4	3463(rs1751034); 669(rs899494)	
			SLC22	rs11231809	
			SLC22	AJ249369	
Descontinuação prematura	Lubomirov <i>et al.</i> , 2011 ¹⁰⁰	Caucasian(80%); African; Asian; Hispanic; other	500 (70/430)	ABCC2	G>A -rs2273697; rs717620
				ABCC4	C>T -rs899494

- **Metanálise da disfunção tubular renal induzida pelo tenofovir**

Dentre todos os SNPs analisados para este fenótipo (Tabela 2), apenas os seguintes foram inclusos na metanálise: ABCB1 rs2032582 (Figuras 10-12), ABCC2 rs2273697 e rs717620 (Figuras 13 e 14, respectivamente), ABCC4 rs1751034 (Figura 15) e os SNPs ABCC10 rs9349256 e rs2125739 (Figuras 16 e 17 respectivamente).

Disfunção tubular renal induzida pelo tenofovir associada ao alelo ABCB1 (2677G>T -rs2032582)

A presença dos alelos foi comparada entre pacientes com (grupo *KTD*) e sem (grupo *control*) disfunção tubular renal (Figura 10). Três estudos foram inclusos nessa metanálise^{87,152,157}, compreendendo uma amostra de 652 pacientes. O resultado não indicou associação desse SNP, segundo os modelos de (A) efeito alélico ou genotípico - assumindo os modelos de (B) dominância e (C) recessividade do alelo G - com a manifestação do fenótipo em pacientes em uso de tenofovir.

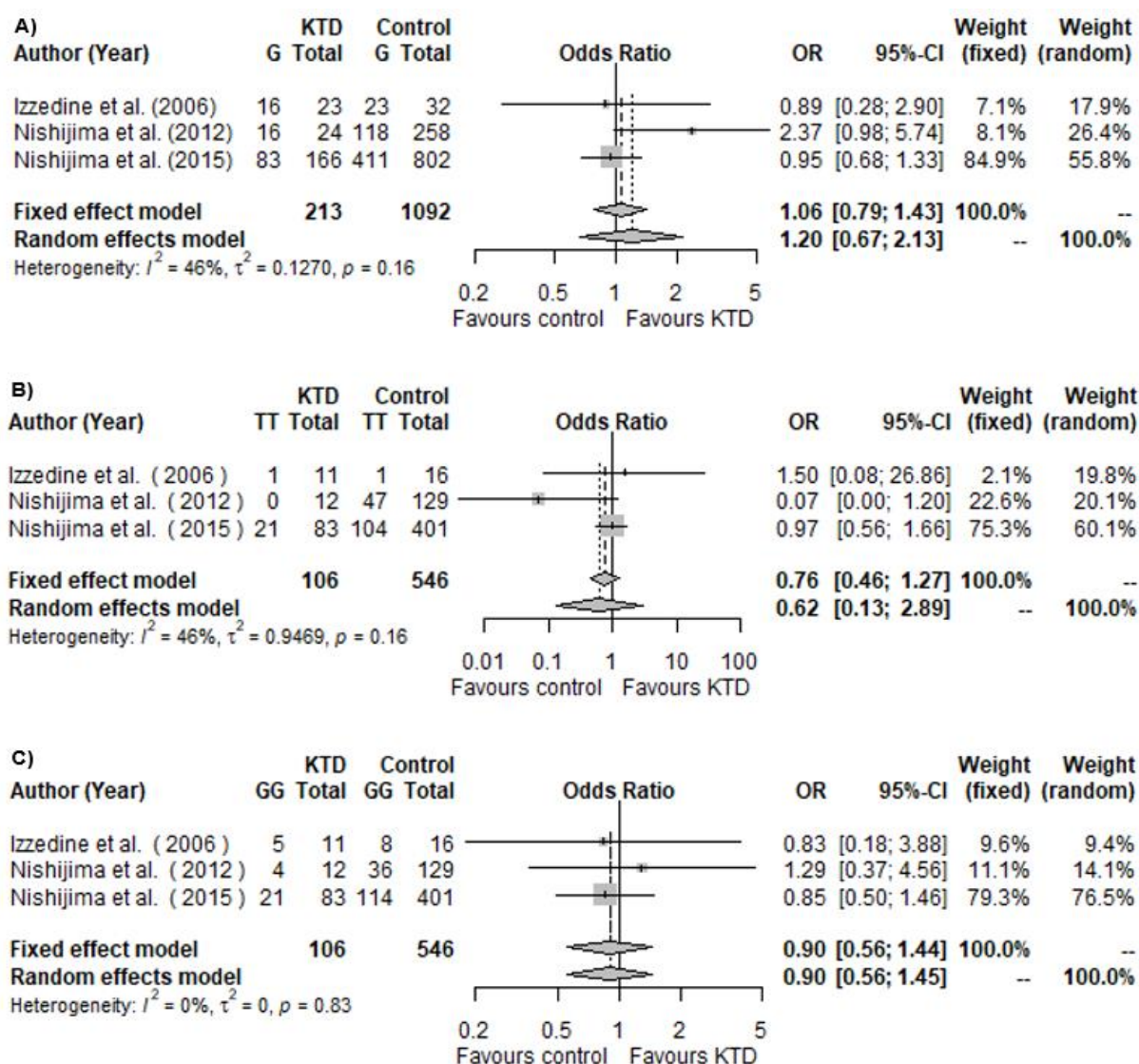


Figura 10: Metanálise da associação entre o SNP ABCB1 rs2032582 e KTD (disfunção tubular renal) induzida pelo tenofovir: (A) alelo G vs. T; (B) TT vs. G_; (C) GG vs. T_.

Disfunção tubular renal induzida pelo tenofovir associada ao alelo ABCC2 (1249G>A -rs2273697)

A presença dos alelos foi comparada entre pacientes com (grupo *KTD*) e sem (grupo *control*) disfunção tubular renal (Figura 11). Cinco estudos foram incluídos nessa metanálise^{87,152,153,157,158}, compreendendo uma amostra de 1.311 pacientes. O resultado não indicou associação desse polimorfismo, segundo os modelos de (A) efeito alélico ou genotípico - assumindo os modelos de (B) dominância e (C)

recessividade do alelo G -, com a manifestação do fenótipo em pacientes em uso de tenofovir.

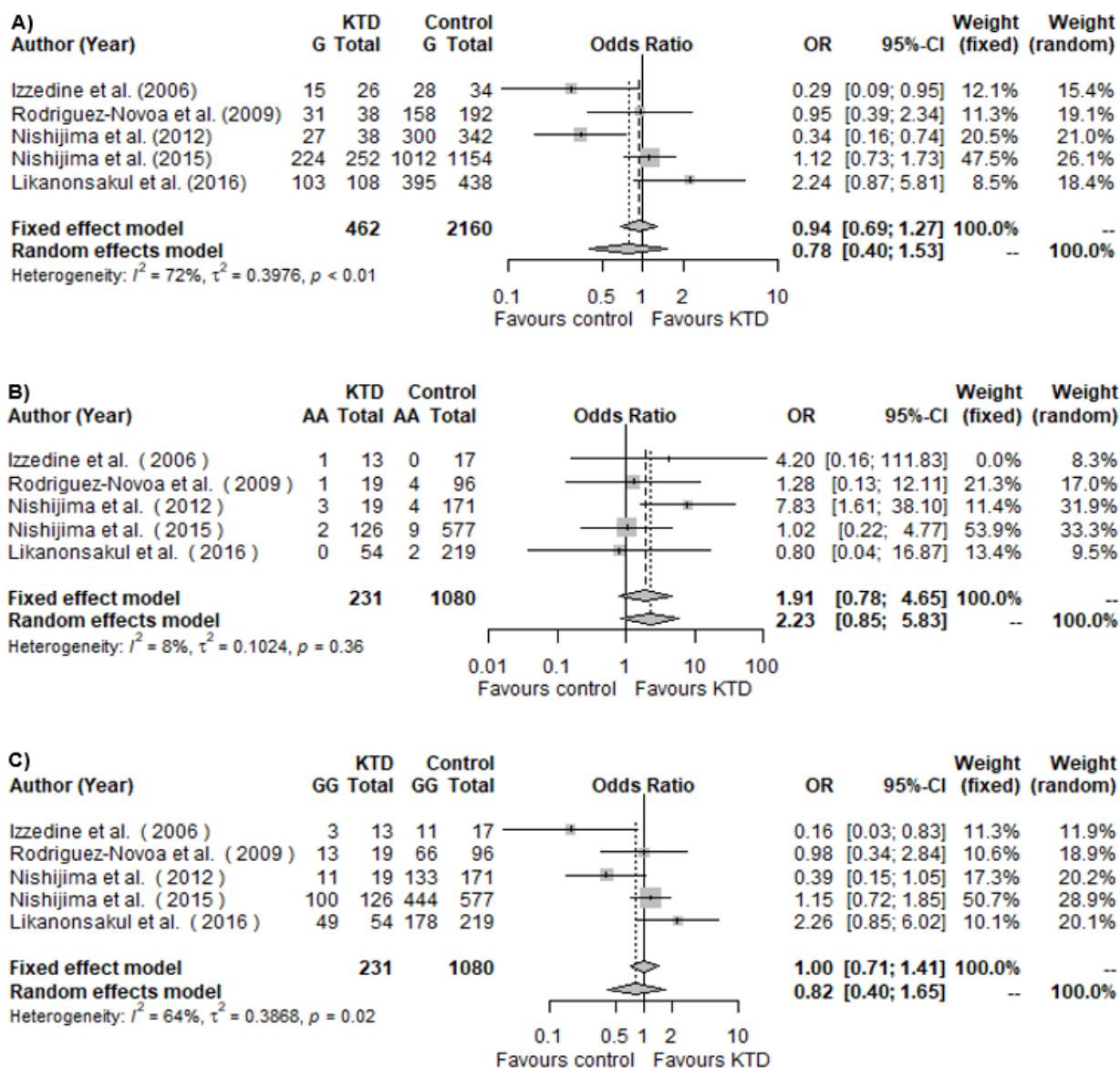


Figura 11: Metanálise da associação entre o SNP ABCC2 rs2273697 e KTD (disfunção tubular renal) induzida pelo tenofovir: (A) alelo G vs. A; (B) AA vs. G_; (C) GG vs. A_.

Disfunção tubular renal induzida pelo tenofovir associada ao alelo ABCC2 (-24C>T -rs717620)

A presença dos alelos foi comparada entre pacientes com (grupo *KTD*) e sem (grupo *control*) disfunção tubular renal (Figura 12). Sete estudos foram inclusos nessa metanálise^{87,152,153,157-160}, compreendendo uma amostra de 1.527 pacientes. O

resultado não indicou associação desse polimorfismo, segundo os modelos de (A) efeito alélico ou genotípico - assumindo modelos de (B) dominância e (C) recessividade do alelo C -, com a manifestação do fenótipo em pacientes em uso de tenofovir.

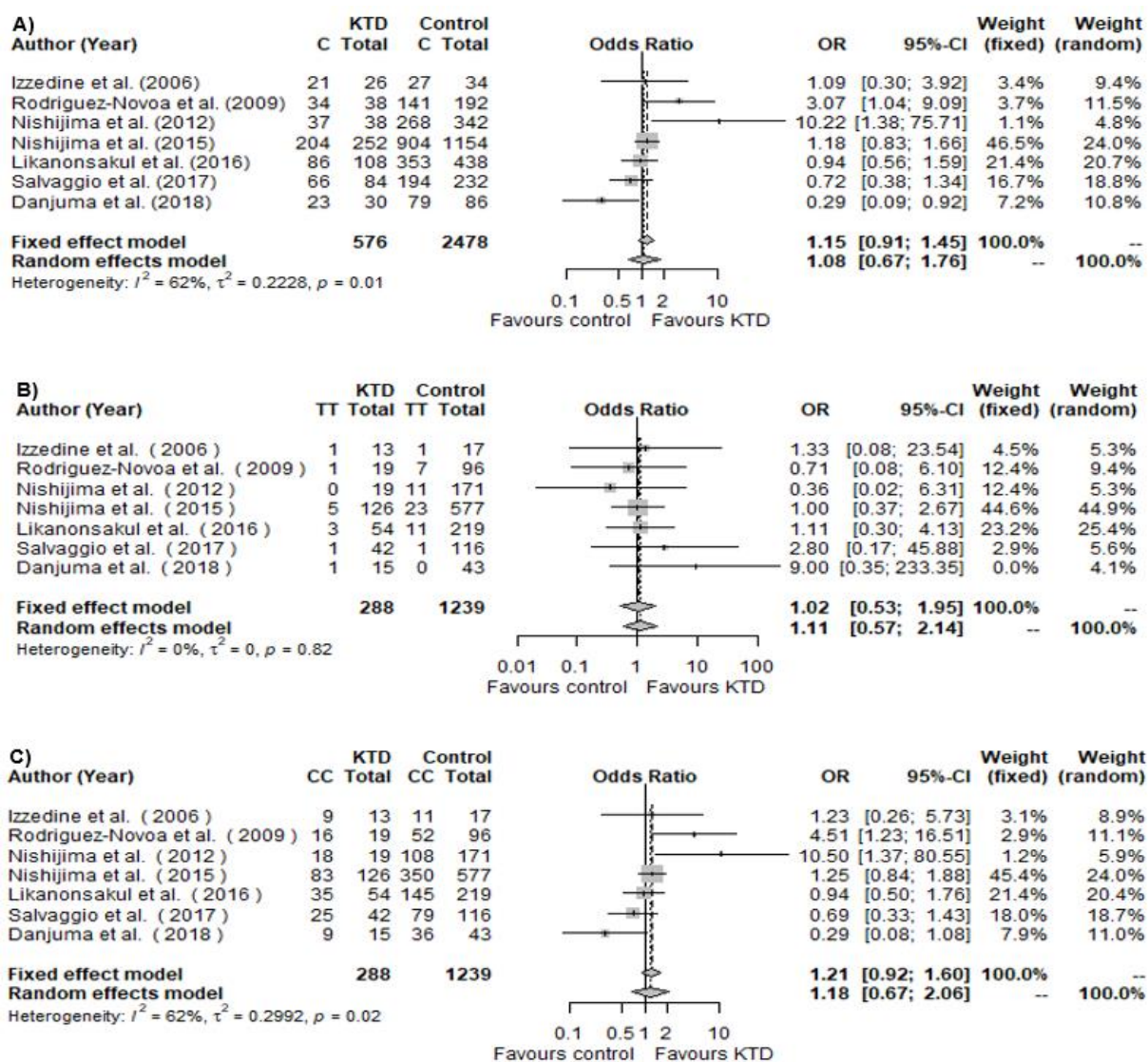


Figura 12: Metanálise da associação entre o SNP ABCC2 rs717620 e KTD (disfunção tubular renal) induzida pelo tenofovir: (A) alelo C vs. T; (B) TT vs. C_; (C) CC vs. T_.

Disfunção tubular renal induzida pelo tenofovir associada ao alelo ABCC4 (3348A>G -rs1751034 ou 3463 C>T)

A presença dos alelos foi comparada entre pacientes com (grupo *KTD*) e sem (grupo *control*) disfunção tubular renal (Figura 13). Cinco estudos foram inclusos

nessa metanálise^{87,152,153,159,160}, compreendendo uma amostra de 550 pacientes. O resultado indicou associação do polimorfismo rs1751034, segundo o modelo de efeito assumindo recessividade do alelo G (B), onde indivíduos GG apresentaram um aumento de aproximadamente duas vezes na chance de manifestar KTD quando comparados com indivíduos AA e AG (O.R.=2,98; I.C.=1,41-6,28).

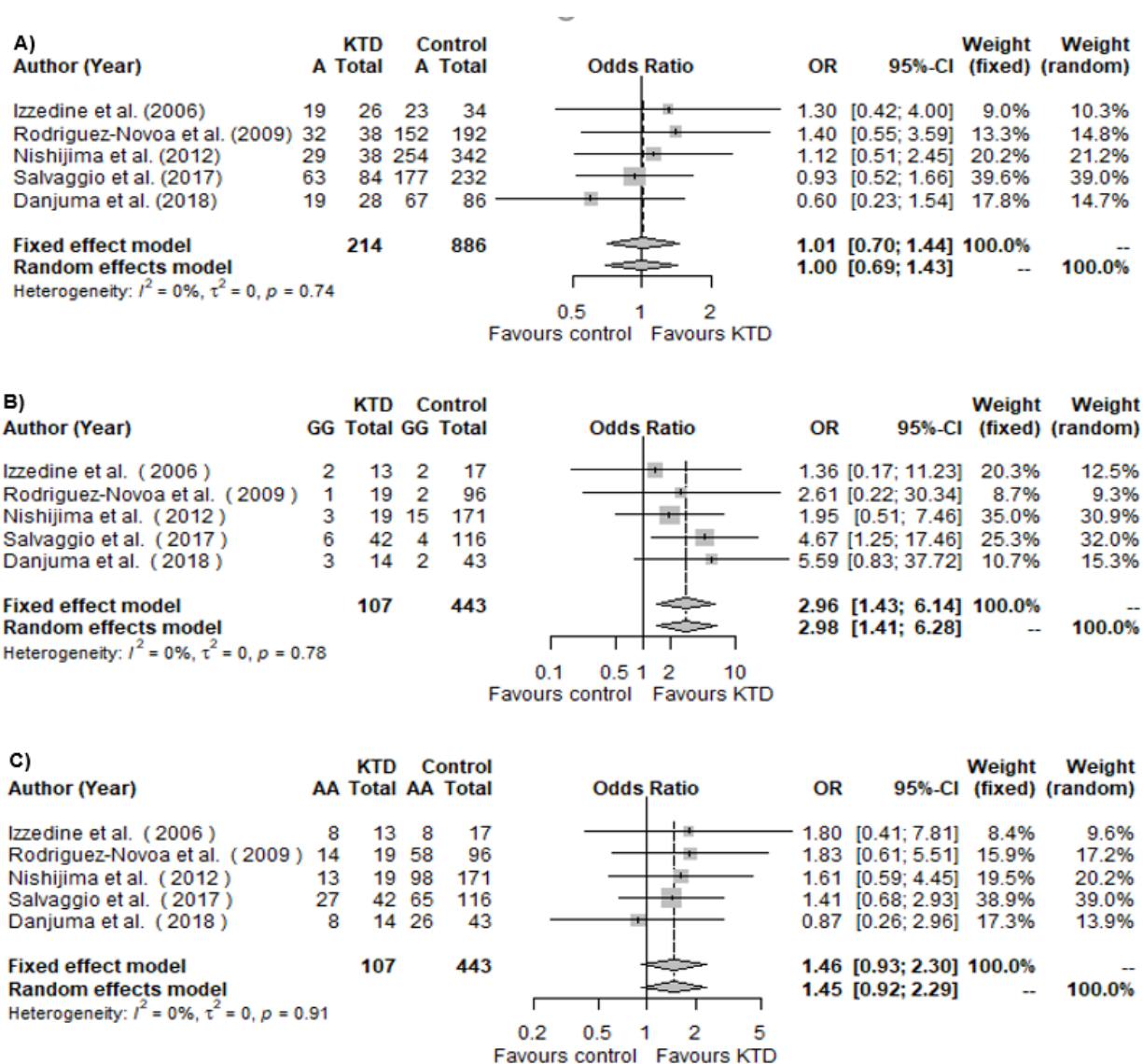


Figura 13: Metanálise da associação entre o SNP ABCC4 rs1751034 e KTD (disfunção tubular renal) induzida pelo tenofovir: (A) alelo A vs. G; (B) GG vs. A; (C) AA vs. G.

Disfunção tubular renal induzida pelo tenofovir associada ao alelo ABCC10 (526G>A -rs9349256)

A presença dos alelos foi comparada entre pacientes com (grupo *KTD*) e sem (grupo *control*) disfunção tubular renal (Figura 14). Três estudos foram inclusos nessa metanálise^{87,154,160}, compreendendo uma amostra de 363 pacientes. O resultado não indicou associação, segundo os modelos de (A) efeito alélico ou genotípico - assumindo os modelos de (B) dominância e (C) recessividade do alelo G -, com a manifestação do fenótipo em pacientes em uso de tenofovir.

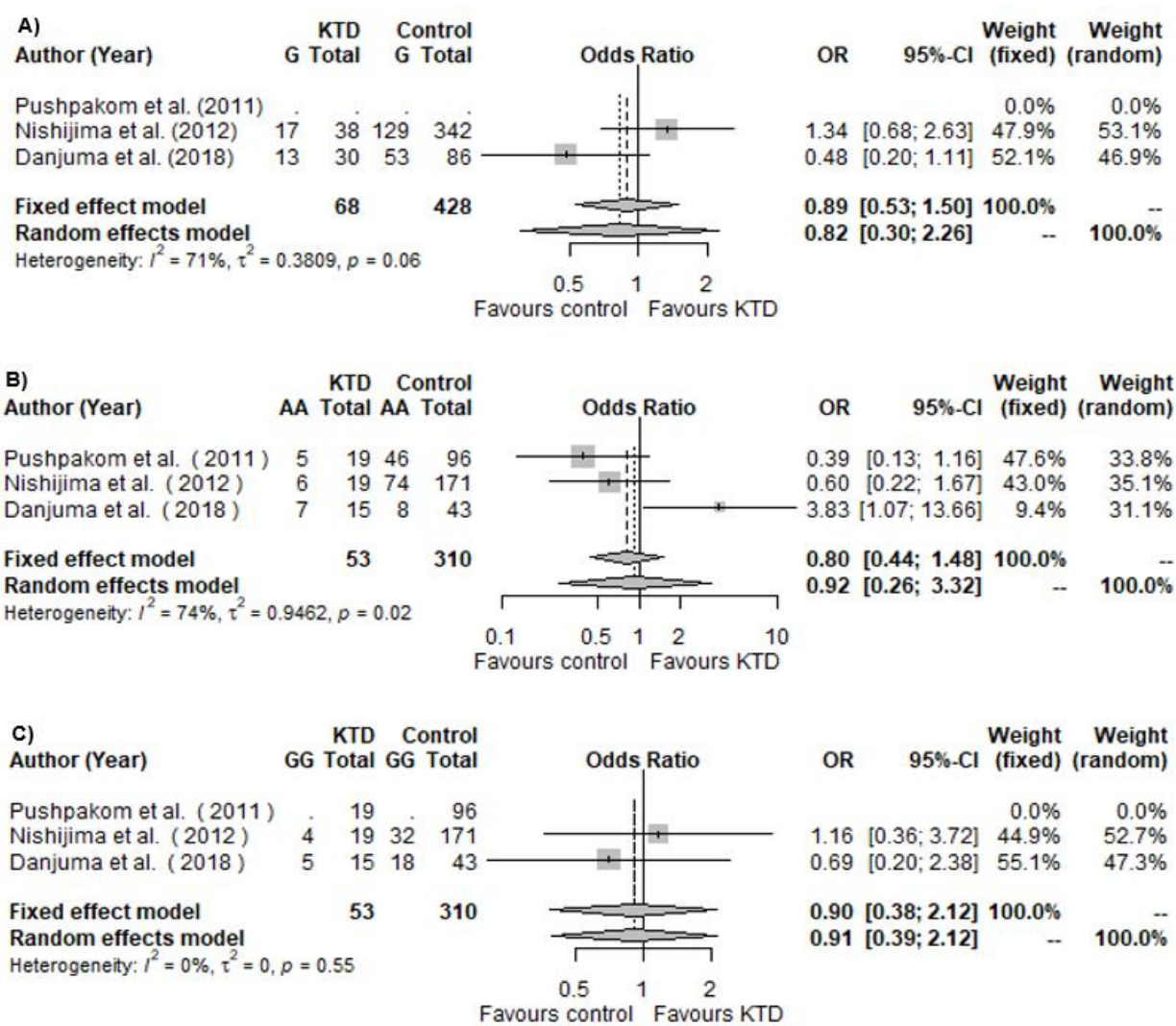


Figura 14: Metanálise da associação entre o SNP ABCC10 rs9349256 e KTD (disfunção tubular renal) induzida pelo tenofovir: (A) alelo G vs. A; (B) AA vs. G₋; (C) GG vs. A₋.

Disfunção tubular renal induzida pelo tenofovir associada ao alelo ABCC10 (2759T>C -rs2125739)

A presença dos alelos foi comparada entre pacientes com (grupo *KTD*) e sem (grupo *control*) disfunção tubular renal induzida pelo tenofovir (Figura 15). Quatro estudos foram incluídos nessa metanálise^{87,154,159,160}, compreendendo uma amostra de 505 pacientes. O resultado não indicou associação desse polimorfismo, segundo os modelos de (A) efeito alélico ou genotípico - assumindo os modelos de (B) dominância e (C) recessividade do alelo T -, com a manifestação do fenótipo em pacientes em uso de tenofovir.

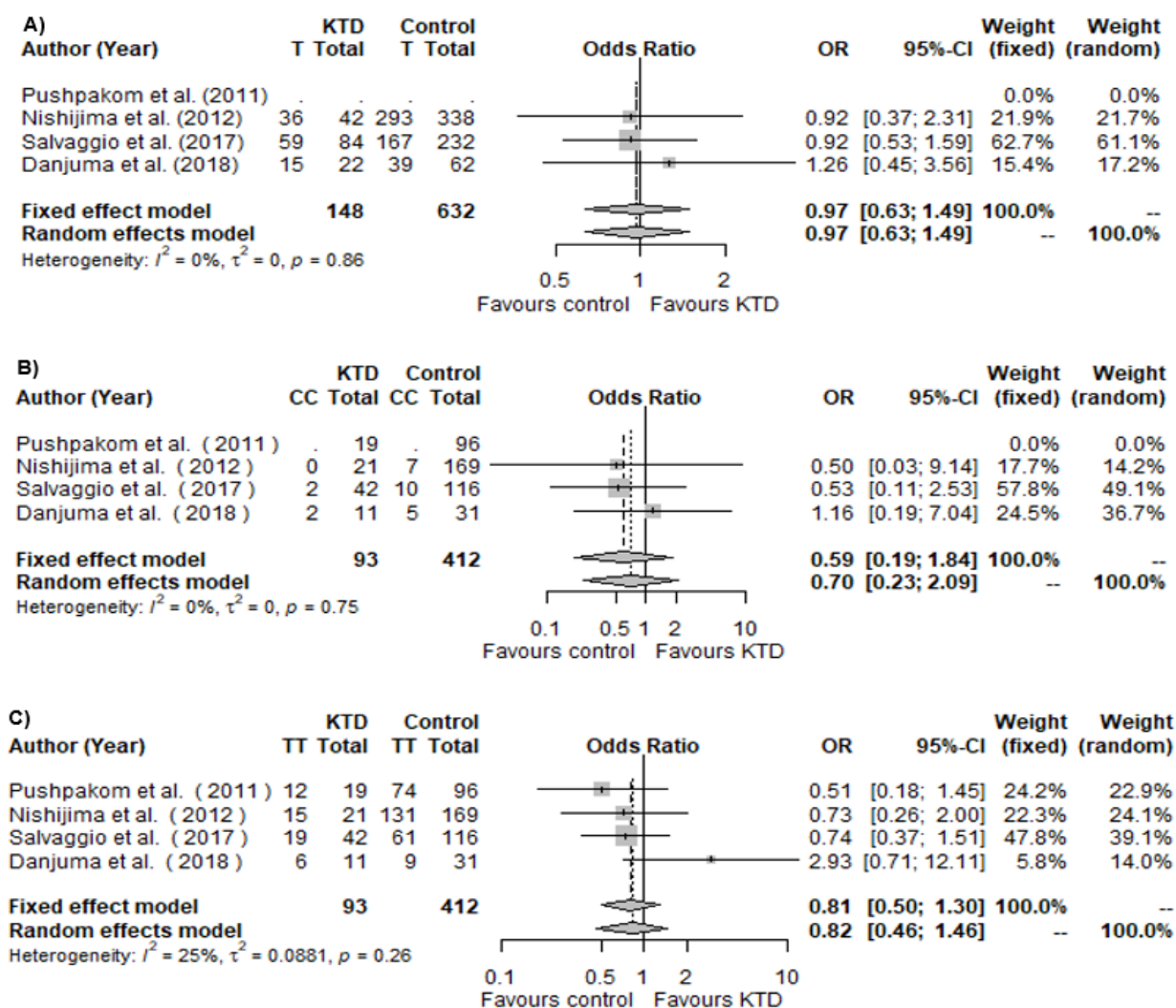


Figura 15: Metanálise da associação entre o SNP ABCC10 rs2125739 e KTD (disfunção tubular renal) induzida pelo tenofovir: (A) alelo T vs. C; (B) CC vs. T; (C) TT vs. C.

4.1.3 Farmacogenética do efavirenz

- **Revisão sistemática da farmacogenética do efavirenz**

Os estudos de associação genética incluídos nessa revisão (n=44) foram publicados entre 2002 e 2018 e foram categorizados em cinco fenótipos. Também apresentam grande heterogeneidade quanto à ancestralidade (Tabela 5). Com relação aos cinco fenótipos encontrados, apenas o fenótipo efeitos adversos no sistema nervoso central preencheu os critérios para realização da metanálise.

Tabela 5. Revisão sistemática de estudos de associação farmacogenética da resposta clínica adversos à terapia contendo efavirenz.

Fenótipo	Autores	Ancestralidade	Amostra (caso/controle)	Gene	Variantes
Efeitos adversos no sistema nervoso central	Haas <i>et al.</i> , 2004 ⁹²	European-Americans(57%); AfricanAmericans(32%); Hispanics(10%)	202	CYP2B6	516G>T -rs3745274
	Hasse <i>et al.</i> , 2005 ¹⁶¹	Thailand	Case report	CYP2B6	516G>T -rs3745274
	Rotger <i>et al.</i> , 2005 ¹³⁴	Swiss HIV Cohort Study	494(123/371)	CYP2B6	516G>T -rs3745274
	Lowenhaupt <i>et al.</i> , 2007 ¹⁶²	SI	Case report	CYP2B6	516G>T -rs3745274
	Usami <i>et al.</i> , 2007 ¹⁶³	Japanese	Case report	CYP2B6	*2/*2 (C64T).
	Saitoh <i>et al.</i> , 2007 ¹⁶⁴	White non-Hispanic; black non-Hispanic; Hispanic	71	CYP2B6	516G>T -rs3745274
	Ramachandran <i>et al.</i> , 2009 ¹⁶⁵	south India	69	CYP2B6	516G>T -rs3745274
	Figueroa <i>et al.</i> , 2010 ¹⁶⁶	Spain (white and african)	32	CYP2B6	516G>T -rs3745274
				CYP3A4	*1B
	Gounden <i>et al.</i> , 2010 ¹⁶⁷	Black South African	80	ABCB1	3435 C>T
	Ribauda <i>et al.</i> , 2010 ¹⁶⁸	Whites; blacks; Hispanics	621	CYP2B6	516G>T -rs3745274
				CYP2B6	516G>T/983T>C (rs3745274; rs28399499)
	Lubomirov <i>et al.</i> , 2011 ¹⁰⁰	Caucasian(80%); African; Asian; Hispanic; other	272	ABCB1	3435C>T -rs1045642; 2677G>T/A -rs2032582
				CYP2B6	rs3745274; rs35303484; rs35979566; rs28399499
				CYP2A6	rs28399433
	Strehlau <i>et al.</i> , 2011 ¹⁶⁹	South African	Case report	CYP3A4	rs4646437
				CYP2B6	516G>T -rs3745274
	Anagnostopoulos <i>et al.</i> , 2013 ¹⁷⁰	Indonesian	Case report	CYP2B6	516G>T -rs3745274; rs281864907
				CYP2A6	g.144G>A; g.3492C>T; g.3570C>G; g.5738C>T
	Sánchez Martín <i>et al.</i> , 2013 ⁸⁸	Caucasian	119	5-HT2A	102C>T -rs6313
ABCC1				816G>A -rs45560437	
ABCC4				rs2274407	
CYP2A6				rs8192726	
BCRP				421C>A -rs2231142	
CYP2B6				516G>T -rs3745274; 785A>G -rs2279343	
Dhoro <i>et al.</i> , 2013 ¹⁷¹	Zimbabwean (Africa)	195(84/11)	CYP2A6	*17(5065G>A) -rs28399454	
			CYP2B6	516G>T; 983T>C	
			ABCB1	C>T(rs10276036); 1236C>T	
	Ghanaian (Africa)	299	CYP2B6	516G>T; 983T>C; rs28399433	

Sarfo <i>et al.</i> , 2014 ¹¹²			CYP2A6	248T>G
			UGT2B7	rs7439366; rs28365062
			CAR	rs2307424
Martin <i>et al.</i> , 2014 ¹⁷²	Caucasian (90.3%); Other ethnicities (9,7% black; Hispanic/Latin)	62(28/34)	CYP2B6	516G>T -rs3745274
Damronglerd <i>et al.</i> , 2015 ¹⁷³	Thailand	24	CYP2B6	c.516G>T; c.64C>T; c.499C>G; c.1375A>G; c.1459C>T; g.3003T>C; g.21563C>T; c.785A>G
Dickinson <i>et al.</i> , 2015 ¹⁷⁴	African (37%); Asian (33%); Caucasian (13%); Hispanic (17%)	606	CYP2B6	516G>T; 983T>C; 15582C>T
			CYP3A4	*22
			CYP2A6*	*17; *9B
			NR1I3	540C>T; 1089T>C
Lee <i>et al.</i> , 2015 ¹⁷⁵	Chinese	72	CYP2B6	516G>T -rs3745274
Leger <i>et al.</i> , 2016 ¹⁷⁶	Whites(59.5%); Blacks(35%); Hispanics(4.5%); Asians(1%)	563(99/464)	CYP2A6	-48T>G(rs28399433)
			CYP2B6	15582C>T rs4803419; 516 -rs3745274; 983 - rs28399499
Dickinson <i>et al.</i> , 2016 ¹⁷⁷	Caucasian; Asian; African	572(73/499)	CYP2B6	15582C>T rs4803419; 983TC/CC - rs28399499; 516GT -rs3745274
			ABCB1	3435C>T -rs1045642
Mathiesen <i>et al.</i> , 2016 ¹⁷⁸	SI	Case report	CYP2B6	516G>T -rs3745274
Pinillos <i>et al.</i> , 2016 ¹⁷⁹	Black African	4	CYP2B6	c.516G>T(rs3745274); c.785A>G(rs2279343); c.983 T>C(rs28399499)
Müller <i>et al.</i> , 2017 ¹⁸⁰	southern Brazil	89	CYP2B6	516G>T -rs3745274
Mollan <i>et al.</i> , 2017 ¹⁸¹	White; black	1833(75/1758)	CYP2A6	-48T>G(rs28399433)
			CYP2B6	516G>T -rs3745274; 983T>C -rs28399499; 15582C>T rs4803419
Gallien <i>et al.</i> , 2017 ¹⁸²	Caucasian(85%); African(12%)	191(104/87)	CYP2B6	516G>T -rs3745274
			CYP3A5	6986A>G -rs776746
			ABCB1	2677G>T/A -rs2032582; 3435C>T - rs1045642
Gross <i>et al.</i> , 2017 ¹⁸³	Black African	605	CYP2B6	516G>T; 983T>C
Sandkovsky <i>et al.</i> , 2017 ¹⁸⁴	White; black	30	CYP2B6	516G>T -rs3745274
Almeida <i>et al.</i> , 2018 ¹⁸⁵	African; European; Native American	225(89/136)	CYP2B6	15582C>T rs4803419; 516TT -rs3745274; 983TT -rs28399499
			CYP3A4	rs4646437; rs 2740574
			ABCB1	rs1882478
Haas <i>et al.</i> , 2018 ¹⁸⁶	White non-Hispanic; Black non-Hispanic; Hispanic; Asian; Native American; Multiracial; Unknown	820(167/653)	CYP2B6/CYP2A6	CYP2B6(516G>T; 983T>C; 15582C>T); CYP2A6(-48T>G)

Tabela 5: Continuação

Fenótipo	Autores	Ancestralidade	Amostra (caso/controle)	Gene	Variantes
Hepatotoxicidade	Ritchie <i>et al.</i> , 2006 ¹⁸⁷	white(80%); black(18%)	53(4/49)	CYP3A4	-392A>G
				CYP2B6	516G>T; 1459C>T
				ABCB1	3435C>T
Reação de hipersensibilidade	Rodrigues <i>et al.</i> , 2018 ¹⁸⁸	Brazilians	63(21/42)	IL4	589T
	Vitezica <i>et al.</i> , 2008 ¹⁸⁹			French caucasians	7
Descontinuação prematura	Cummins <i>et al.</i> , 2015 ¹⁹⁰	North America(57%); Europe(21%); South America(9%); Asia(8%); Australia(4%); Africa(1%)	758	CYP2A6	C -rs28399433
				CYP2B6	G -rs28399499; G -rs35303484; A -rs35979566; A -rs3745274
Eficácia terapêutica (↓ carga viral / ↑ células T-CD4 ⁺)	Fellay <i>et al.</i> , 2002 ⁹¹	White	80	CYP2D6	*3; *4; *6
	Haas <i>et al.</i> , 2005 ¹⁹¹	United States/Italy (white; black; Hispanic)	340	ABCB1	3435C>T -rs1045642
				CYP2B6	516G>T; 1459C>T
				CYP3A4	-392A>G
	Saitoh <i>et al.</i> , 2005 ¹⁹²	White non-Hispanic; black non-Hispanic; Hispanic; Native American	71	CYP3A5	6986A>G
				ABCB1	2677G>T/A; 3435C>T
				CYP2B6	*5 C>T
				CYP3A4	V A>G
	Saitoh <i>et al.</i> , 2007 ¹⁶⁴	White non-Hispanic; black non-Hispanic; Hispanic	71	CYP3A5	*3 A>G
	Gounden <i>et al.</i> , 2010 ¹⁶⁷	Black South African	80	CYP2C19	*2 G>A; *3 G>A; *4 A>G
	Ribaldo <i>et al.</i> , 2010 ¹⁶⁸	Whites; blacks; Hispanics	621	ABCB1	MDR1 3435C>T, CYP3A4-V-A!G, CYP3A53-A!G, CYP3A56-G! A,CYP2C19C4-A!G
				CYP2B6	516G>T -rs3745274
	Habtewold <i>et al.</i> , 2011 ¹²⁹	Ethiopia (Africa)	160	CYP2B6	516G>T -rs3745274
				CYP2B6	516G>T -rs3745274
				ABCB1	C 7586657_20 (3435C TC)
				CYP2B6	516G>T -rs3745274
				UGT2B7	C_30720663_20 (2327G>A UGT2B7*2b, *2c, *2d, *2f)
				CYP3A5	6986A>G (CYP3A5*3); 14690G>A (CYP3A5*6); g.27131_27132insT (CYP3A5*7)
				CYP2B6	516G>T -rs3745274
				CYP2B6	15582C>T; 516G>T; 983T>C
				CYP2A6	rs28399433
				CYP3A4	rs2740574
	Glass <i>et al.</i> , 2012 ¹⁹³	Caucasian	37	CYP3A5	*7
				ABCB1	SI
				CYP2B6	516G>T; 983T>C; rs28399433
	Ngaimisi <i>et al.</i> , 2013 ¹⁹⁴	Tanzania; Ethiopia (Africa)	446	CYP2A6	248T>G
				UGT2B7	rs7439366; rs28365062
CAR				rs2307424	
Haas <i>et al.</i> , 2014 ¹⁹⁵	Port-au-Prince; Haiti	360	CYP2B6	516G>T; 983T>C; 15582C>T	
			CYP3A4	*22	
			CYP2A6*	*17; *9B	
			NR1I3	540C>T; 1089T>C	
Sarlo <i>et al.</i> , 2014 ¹¹²	Ghanaian (Africa)	299	CYP2B6	rs8192709; rs3211371; rs3745274; rs2279343; rs33980385; rs28399499; rs193922917; rs193922918	
			CYP2B6	516G>T; 983T>C	
Dickinson <i>et al.</i> , 2015 ¹⁷⁴	African (37%); Asian (33%); Caucasian (13%); Hispanic (17%)	606	CYP2B6	516G>T; 983T>C	
			CYP2B6	516G>T; 983T>C	
Rohrich <i>et al.</i> , 2016 ¹⁹⁶	South African Black; Mixed Ancestry	134	CYP2B6	516G>T -rs3745274	
Gross <i>et al.</i> , 2017 ¹⁸³	Black African	605	CYP2B6	516G>T -rs3745274	
Müller <i>et al.</i> , 2017 ¹⁸⁰	Southern Brazil	89	CYP2B6	516G>T -rs3745274	
Vujkovic <i>et al.</i> , 2017 ¹⁹⁷	black Botswana (Africa)	1338(276/1062)	CYP2B6	516G>T -rs3745274	
Queiroz <i>et al.</i> , 2017 ¹⁴¹	Belém (Brazil)	185	CYP2B6	516G>T -rs3745274	

- **Metanálise dos efeitos adversos no sistema nervoso central induzidos pelo efavirenz**

Dentre todos os polimorfismos analisados para este fenótipo (Tabela 5), apenas o CYP2B6 rs3745274 foi incluso na metanálise (Figura 16).

Efeitos adversos no sistema nervoso central induzidos pelo efavirenz associados ao alelo CYP2B6 (516G>T -rs3745274)

A presença dos alelos foi comparada entre pacientes com (grupo *AE CSM*) e sem (grupo *control*) a manifestação de efeitos adversos no sistema nervoso central (Figura 16). Quatro estudos foram inclusos nessa metanálise^{94,171,198,199}, compreendendo uma amostra de 939 pacientes. O resultado indicou associação do polimorfismo rs3745274, segundo o modelo de efeito assumindo recessividade do alelo T (C), onde indivíduos TT apresentaram uma maior chance de manifestar o fenótipo quando comparados com indivíduos GG ou GT (O.R.=2,10; I.C.=1,04-4,24).

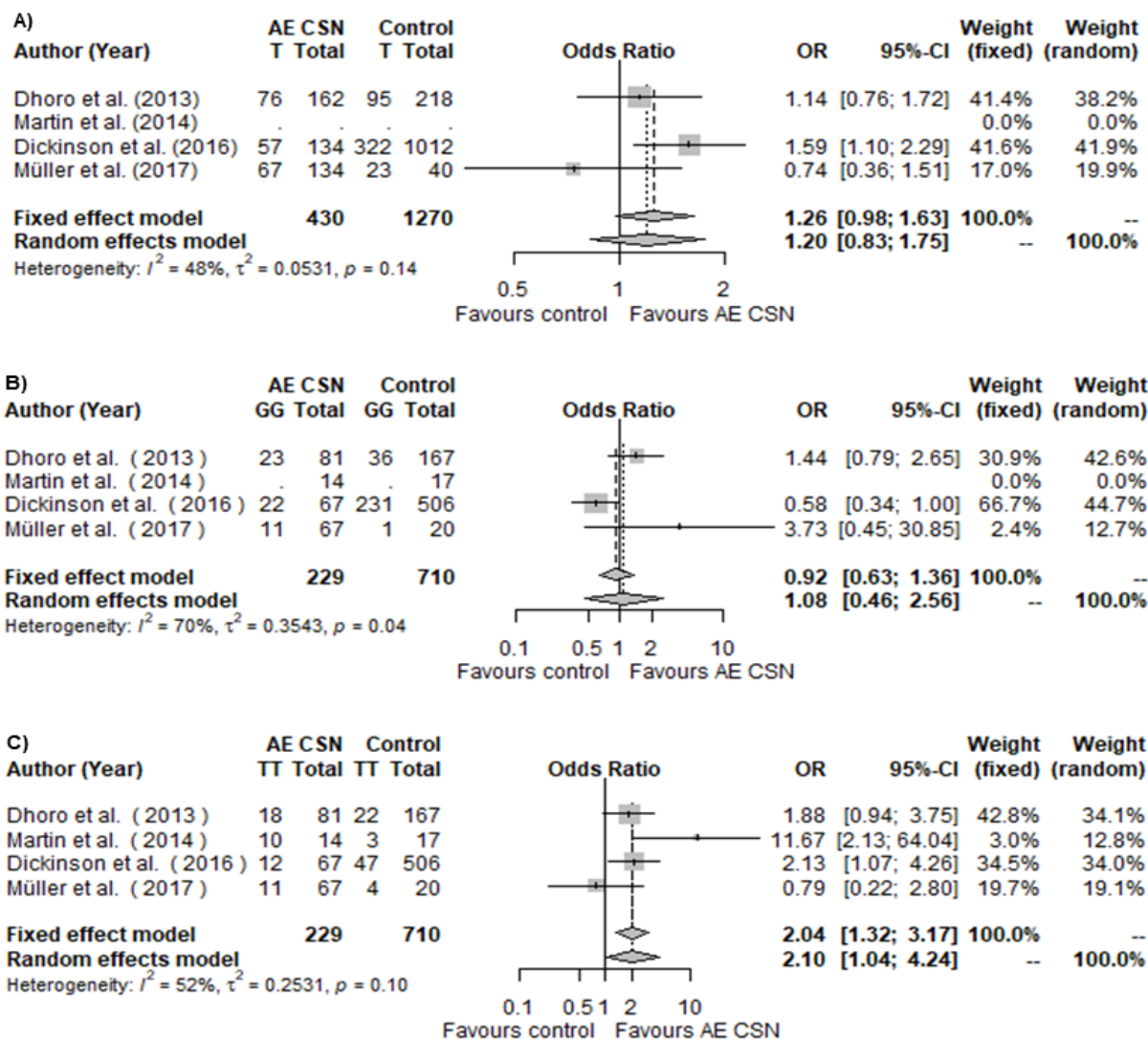


Figura 16: Metanálise da associação entre o SNP CYP2B6 rs3745274 e AE CNS (efeitos adversos no sistema nervoso central) induzidos pelo efavirenz: (A) alelo T vs. G; (B) GG vs. T; (C) TT vs. G.

4.1.4 Farmacogenética da nevirapina

- **Revisão sistemática da farmacogenética da nevirapina**

Os estudos incluídos ($n=21$) foram publicados entre 2005 e 2017. Também foi observada heterogeneidade quanto à ancestralidade, entretanto, 50% dos estudos investigaram, exclusivamente, em populações africanas (Tabela 6). Entre os 4 fenótipos encontrados, apenas o fenótipo reação de hipersensibilidade ($n=10$) satisfaz os critérios para inclusão na metanálise.

Tabela 6: Revisão sistemática de estudos de associação farmacogenética da resposta clínica à terapia contendo nevirapina.

Fenótipo	Autores	Ancestralidade	Amostra (caso/controle)	Gene	Variantes
Reação de hipersensibilidade	Martin <i>et al.</i> , 2004 ⁹⁷	Western Australian	235(26/209)	HLA-DRB	*1(0101)
				HLA-A	HLA-A
				HLA-B	*5701
				HLA-C	HLA-C
				HLA-DQ	HLA-DQ loci
	Littera <i>et al.</i> , 2006 ⁹⁹	Sardinian	49(13/36)	HLA A	33
				HLA-DRB	*1(0101); *1(0102)
				HLA-B	14
	Gatanaga <i>et al.</i> , 2007 ⁹⁸	Japoneses	41(12/29)	HLA-Cw	*8
				HLA-B	14
	Vitezica <i>et al.</i> , 2008 ¹⁸⁹	French caucasians	14(??/?)	HLA-Cw	*0802;
				HLA-DRB	HLA-DRB1(*0101)
	Chantarangsua <i>et al.</i> , 2009 ⁹³	Thailandia	332(147/185)	HLA-A	*2407
				HLA-B	*3505; *3802
				HLA-Cw	*0401; *070
	Likononsakul <i>et al.</i> , 2009 ²⁰⁰	Thailandia	99 (39/60)	HLA-DRB	*1(1202)
				HLA-Cw	*04
	Yuan <i>et al.</i> , 2011 ⁹⁴	African, Asian, and European descent	762(175/587)	CYP2B6	516G>T -rs3745274; rs2054675; rs3786547
				HLA-Cw	*0401
				HLA-B	*3505; *3501
				HLA-DPB	HLA-DPB
				HLA-DQB	HLA-DQB1*05
	Gozalo <i>et al.</i> , 2011 ²⁰¹	SI	72(18/54)	HLA-DRB	*1(*0101)
				CYP2B6	516G>T -rs3745274; 785A>G -rs2279343; 1459C>T
				CYP3A5	*3(6986A>G -rs776746)
	Borgiani <i>et al.</i> , 2013 ²⁰²	Mozambique (Africa)	103(27/76)	ABCB1	2677G>T/A -rs2032582; 3435C>T -rs1045642
				HCP5	rs3099844
	Ciccacci <i>et al.</i> , 2013 ¹⁹⁹	Mozambique (Africa)	105(27/78)	PSORS1C1	rs2233945; rs2233945
				CYP2B6	983T>C -rs28399499; 516G>T -rs3745274; rs58425034; rs8192715; rs12721646; rs2279343
				CYP3A4	rs2740574
CYP3A5				rs776746	
ABCB1				3421T>A -rs2229107; 3435C>T -rs1045642	
Carr <i>et al.</i> , 2013 ⁹⁵	Malawian (Africa)	271(116/155)	ABCC10	3058C>T -rs2125739	
			HLA-Cw	*0401; *08 e varios alelos	
			HLA-DQB1	HLA-DQB1 (02:01G; 03:02:01; 05:01:01; 06:02; 06:03:01; 06:09)	
			HLA-A	HLA-A	
Dhoro <i>et al.</i> , 2013 ¹⁷¹	Zimbabwean (Africa)	156(40/116)	HLA-B	*53:01:01; *35:0518	
			HLA-DRB	*01 (02:01)	
Carr <i>et al.</i> , 2014 ¹⁹⁸	Malawian; Ugandan (Africa)	637(209/428)	CYP2B6	516G>T; 983T>C	
			ABCB1	rs10276036	
Ciccacci <i>et al.</i> , 2015 ²⁰³	Mozambique (Africa)	105(27/78)	CYP2B6	*18(c.983T>C -rs28399499; *9(c.516G>T -rs3745274)	
			TRAF3IP2	TRAF3IP2(rs76228616)	
Ciccacci <i>et al.</i> , 2017 ²⁰⁴	Mozambique (Africa)	105(27/78)	GSTM1	GSTM1	
			CYP2B6	rs3745274; rs28399499	
			HCP5	rs3099844	
			TRAF3IP2	rs76228616	
			GSTT1	GSTT1	

Tabela 6: Continuação.

Fenótipo	Autores	Ancestralidade	Amostra	Gene	Variantes
Hepatotoxidade	Haas <i>et al.</i> , 2006 ²⁰⁵	South Africa	161(53/108)	CYP2B6	516G>T; 1459C>T
				CYP3A4	392A>G
				CYP3A5	6986G>A -rs776746; 6986A>G
				ABCB1	3435C>T -rs1045642; 2677G>T -rs2032582
	Ritchie <i>et al.</i> , 2006 ¹⁸⁷	white(80%); black(18%)	58(9/49)	CYP3A4	-392A>G
				CYP2B6	516G>T; 1459C>T(rs3211371)
				ABCB1	3435C>T
	Ciccacci <i>et al.</i> , 2010 ²⁰⁶	Mozambique (Africa)	156(78/78)	CYP2B6	c.983T>C(rs28399499); c.785A>G(rs2279343); c.646-17C>T(rs12721646); c.646-106G>A(rs8192715); c.646-159G>C(rs58425034); c.516G>T(rs3745274)
				ABCB1	c.2785+49T>C (rs2032583); c.3435C>T(rs1045642); c.3421T>A(rs2229107)
				CYP3A5	g.6986A>G -rs776746
				CYP3A4	-392A>G
	Yuan <i>et al.</i> , 2011 ⁹⁴	African, Asian, European descent	688(101/587)	HLA-Cw	*0401
				HLA-B	*3505; *3501
				HLA-DPB	HLA-DPB
				HLA-DQB	HLA-DQB1*05
				HLA-DRB	*1
	Phillips <i>et al.</i> , 2013 ²⁰⁷	Black (71%); Caucasian (14%); Mixed (11%); Asian (2%); other (1%)	168(57/111)	HLA-DRB	*1(0101); *1(0102); *1(0301); *1(1401)
				HLA-A	*6801
HLA-B				*5801; *1510; *5802; *0705; *1801; *3501; *4101	
HLA-C				*0210; *0302; *1203; *0304; *0602	
CYP2B6				516G>T -rs3745274	
Eficácia terapêutica (↑ células T-CD4 ⁺)	Gozalo <i>et al.</i> , 2011 ²⁰¹	SI	72(18/54)	CYP2B6	516G>T -rs3745274; 785A>G -rs2279343; 1459C>T
				CYP3A5	*3(6986A>G -rs776746)
				ABCB1	2677G>T/A -rs2032582; 3435C>T -rs1045642
				HLA-DRB1	*0101
	Zhu <i>et al.</i> , 2013 ¹³⁰	Chineses	239	ABCB1	3435C>T -rs1045642; 2677T>G -rs2032582
				CYP2B6	516G>T -rs3745274
				ABCG2	421C>A
	Oluka <i>et al.</i> , 2015 ²⁰⁸	Kenyan(Africa)	66	ABCC4	559G>T -rs11568658
				CYP2B6	983T>C -rs28399499; 516G>T -rs3745274
	Mhandire <i>et al.</i> , 2015 ²⁰⁹	Zimbabwean (Africa)	118	CYP1A2	g.-163C>A
CYP2B6				516G>T -rs3745274; 983T>C -rs28399499	

- **Metanálise da reação de hipersensibilidade induzida pela nevirapina**

Dentre todos os polimorfismos analisados para este fenótipo (Tabela 6), apenas os seguintes foram inclusos na metanálise: HLA-Cw*0401 (Figura 17), HLA-DRB*01 (Figura 18) e CYP2B6 rs3745274 (Figura 19).

Reação de hipersensibilidade induzida pela nevirapina associada ao alelo HLA-Cw *0401

A presença do alelo HLA-Cw *0401 foi comparada entre pacientes com (grupo *HSR*) e sem (grupo *control*) manifestação de reação de hipersensibilidade (Figura 17). Quatro estudos foram incluídos na metanálise^{93-95,200}, compreendendo uma amostra de 1.563 pacientes. O resultado indicou associação do HLA-Cw*0401, na qual a presença de ao menos uma cópia desse alelo (*0401/_) aumentou em, aproximadamente, 2 vezes a chance de apresentar o fenótipo (O.R.=2,98; I.C.=2,18-4,08).

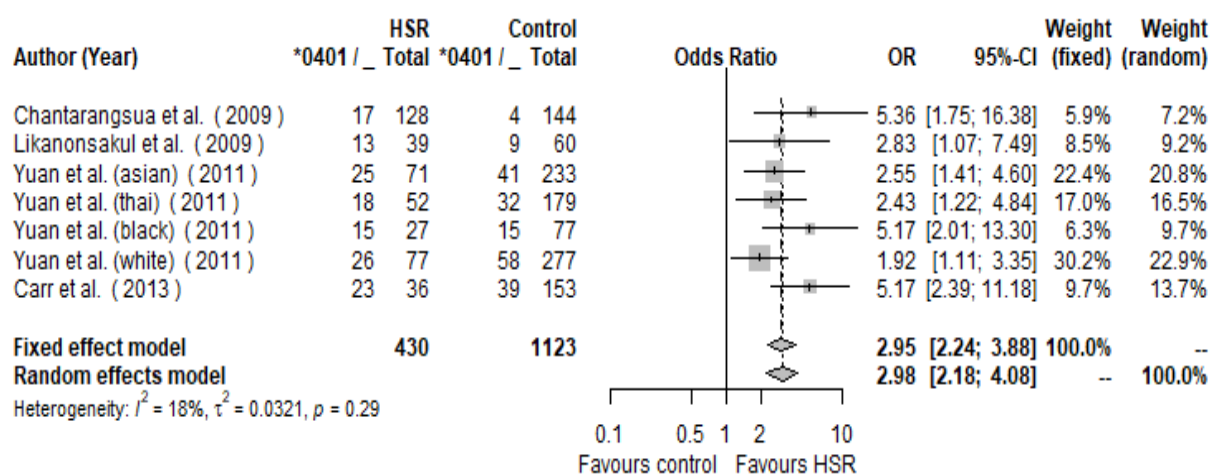


Figura 17. Metanálise da associação entre a presença do alelo HLA-Cw *0401 e HSR (reação de hipersensibilidade) induzida pela nevirapina.

Reação de hipersensibilidade induzida pela nevirapina associada ao alelo HLA-DRB*01

A presença do alelo HLA-DRB*01 foi comparada entre pacientes com (grupo *HSR*) e sem (grupo *control*) manifestação de reação de hipersensibilidade (Figura 18). Seis estudos foram incluídos na metanálise^{94,95,97,99,189,201}, compreendendo uma amostra de 1.166 pacientes. O resultado indicou associação do HLA-DRB*01, na qual a presença de ao menos uma cópia desse alelo (*01/_) aumentou em, aproximadamente, 2 vezes a chance de apresentar o fenótipo (O.R.=2,52; I.C.=1,29-4,91).

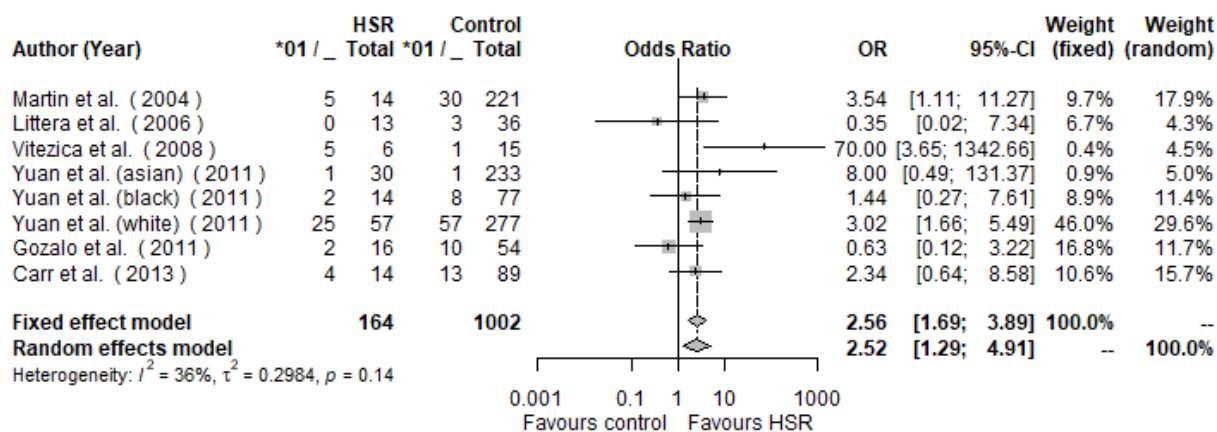


Figura 18. Metanálise da associação entre a presença do alelo HLA-DRB*01 e HSR (reação de hipersensibilidade) induzida pela nevirapina.

Reação de hipersensibilidade induzida pela nevirapina associada ao alelo CYP2B6 (516G>T -rs3745274)

A presença dos alelos foi comparada entre pacientes com (grupo *HSR*) e sem (grupo *control*) a manifestação de reação de hipersensibilidade à nevirapina (Figura 19). Quatro estudos foram inclusos nessa metanálise^{94,171,198,199}, compreendendo uma amostra de 1.644 pacientes. O resultado não indicou associação desse polimorfismo, segundo os modelos de efeito alélico ou genotípico (assumindo modelos de dominância e recessividade do alelo T), com a manifestação do fenótipo.

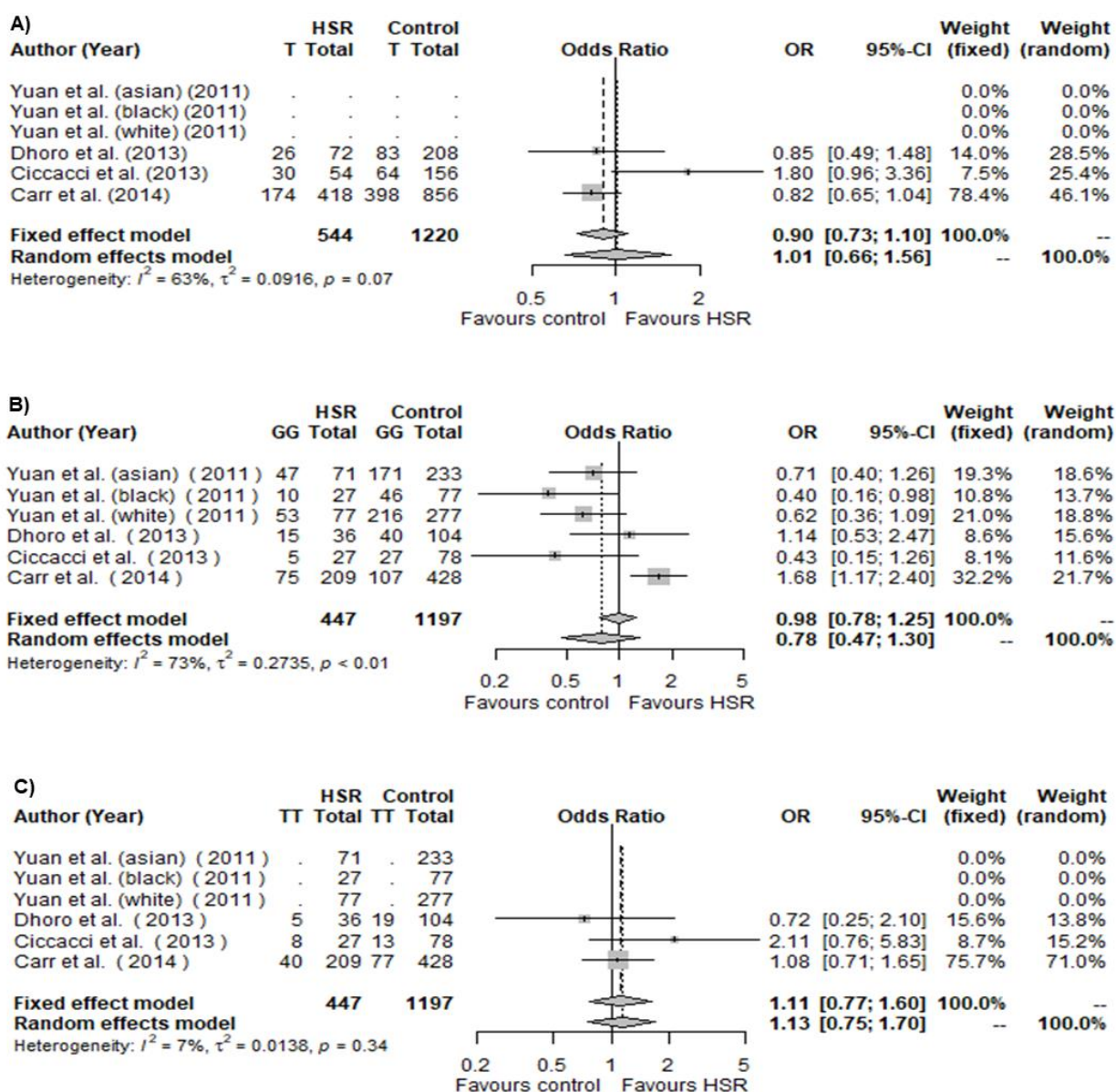


Figura 19. Metanálise da associação entre o SNP CYP2B6 rs3745274 e HSR (reação de hipersensibilidade) induzida pela nevirapina: (A) alelo T vs. G; (B) GG vs. T_; (C) TT vs. G_.

4.1.5 Farmacogenética dos inibidores de protease

- **Revisão sistemática da farmacogenética dos inibidores de protease**

Foram encontrados estudos de associação que analisaram fenótipos relacionados ao lopinavir/ritonavir, atazanavir/ritonavir e indinavir). Os estudos incluídos (n=17) foram publicados entre 2005 e 2017. Observou-se grande heterogeneidade quanto à ancestralidade (Tabela 7). Foram encontrados 4 fenótipos

associados, mas apenas o fenótipo hiperbilirrubinemia (n=14) satisfaz os critérios para inclusão na metanálise.

Tabela 7: Revisão sistemática de estudos de associação farmacogenética da resposta clínica à terapia contendo inibidores de protease.

Droga	Fenótipo	Autores	Ancestralidade	Amostra (caso/controle)	Gene	Variantes
Lopinavir/ ritonavir	↑ lipídios e bilirrubina plasmática e diarréia	Aspiroz <i>et al.</i> , 2014 ²¹⁰	European	106	IL-6	rs2069835
					ABCC2	rs3740066
					CETP	rs11076174
					LEP	rs1137100
					SLCO1B3	rs4149117
Atazanavir/ ritonavir	Hiperbilir rubinemia	Rodriguez-Novoa <i>et al.</i> , 2006 ¹⁰¹	Whites	74	ABCB1	3435C>T -rs1045642
		Rotger <i>et al.</i> , 2005 ²¹¹	White(95.8%); African(1.0%); Hispanic(3.1%)	150	UGT1A1	*28
		Lankisch <i>et al.</i> , 2006 ²¹²	Northern German Caucasoid (92,5%); African (4,7%); Asian (2,8%)	106 (39/67)	UGT1A	UGT1A1*28; UGT1A3 (-66C); UGT1A7 (- 57G); UGT1A7129K/131K
		Rodriguez-Novoa <i>et al.</i> , 2007 ¹⁰²	Caucasians	118	UGT1A1	*28
		Choe <i>et al.</i> , 2010 ²¹³	Koreans	168	UGT1A1	*28
		Park <i>et al.</i> , 2010 ¹⁰⁴	South Korea	129	ABCB1	2677; 3435
					UGT1A1	*28; *6
		Ferraris Laurenzia <i>et al.</i> , 2012 ²¹⁴	Milan (Italy)	51	UGT1A1	*28
		Turatti <i>et al.</i> , 2012 ²¹⁵	Euro-Brazilians (60.3%); Afro- Brazilians (39.7%)	375	UGT1A1	*28
		Ribaudo <i>et al.</i> , 2013 ²¹⁶	Whites; blacks; Hispanics	646	UGT1A1	*28(rs8175347)
		Johnson <i>et al.</i> , 2014 ²¹⁷	African American; European; Hispanic	543	UGT1A1	*28, *36, *37(rs8175347); rs887829
		Panagopoulos <i>et al.</i> , 2014 ²¹⁸	Caucasians (Grecia)	26	UGT1A1	*28
		Kanestri <i>et al.</i> , 2014 ²¹⁹	SI	47	UGT1A1	*28
		Vardhanabhuti <i>et al.</i> , 2015 ²²⁰	United States and Puerto Rico (black; white; hispanic)	481	UGT1A1	T/T -rs887829
	Leger <i>et al.</i> , 2017 ²²¹	Southeastern USA Black; Hispanic; White	321 (57/264)	UGT1A1	C>T -rs887829	
Descontinuaçã o prematura		Lubomirov <i>et al.</i> , 2011 ¹⁰⁰	Caucasian(80%) ; African; Asian; Hispanic; other	121	UGT1A1	*28
					ABCB1	G>A -rs1045642
					NR112	rs2472677
Indinavir	↑Bilirrubina	Anderson <i>et al.</i> , 2006 ²²²	White(23); African descent(7); Others(3)	33	UGT1A1	*28

- **Metanálise da hiperbilirrubinemia induzida pelo atazanavir**

Dentre todos os polimorfismos analisados para este fenótipo (Tabela 7), apenas o UGT1A1*28 foi incluso na metanálise (Figura 20).

Hiperbilirrubinemia induzida pelo atazanavir associada ao alelo UGT1A1*28.

A presença do alelo UGT1A1*28 foi comparada entre pacientes com (grupo *hyperbilirubinemia*) e sem (grupo *control*) manifestação de hiperbilirrubinemia induzida pelo atazanavir (Figura 20). Cinco estudos foram inclusos na metanálise^{102,104,212,214,216} compreendendo uma amostra de 1.071 pacientes. O resultado indicou associação do alelo UGT1A1*28 por meio dos três modelos de efeito realizados. Segundo o modelo de efeito alélico (A) a presença do alelo aumentou em duas vezes a chance de manifestar o fenótipo (O.R.=3,32; I.C.=2,49-4,44). Pacientes homozigotos para o alelo *6 (B) têm chance 73% menor de apresentar hiperbilirrubinemia (O.R.=0,27; I.C.=0,16-0,47). Pacientes homozigotos para o alelo *28 (C) têm um aumento de 6,17 vezes na chance de manifestar o fenótipo (O.R.=7,17; I.C.=4,32-11,91).

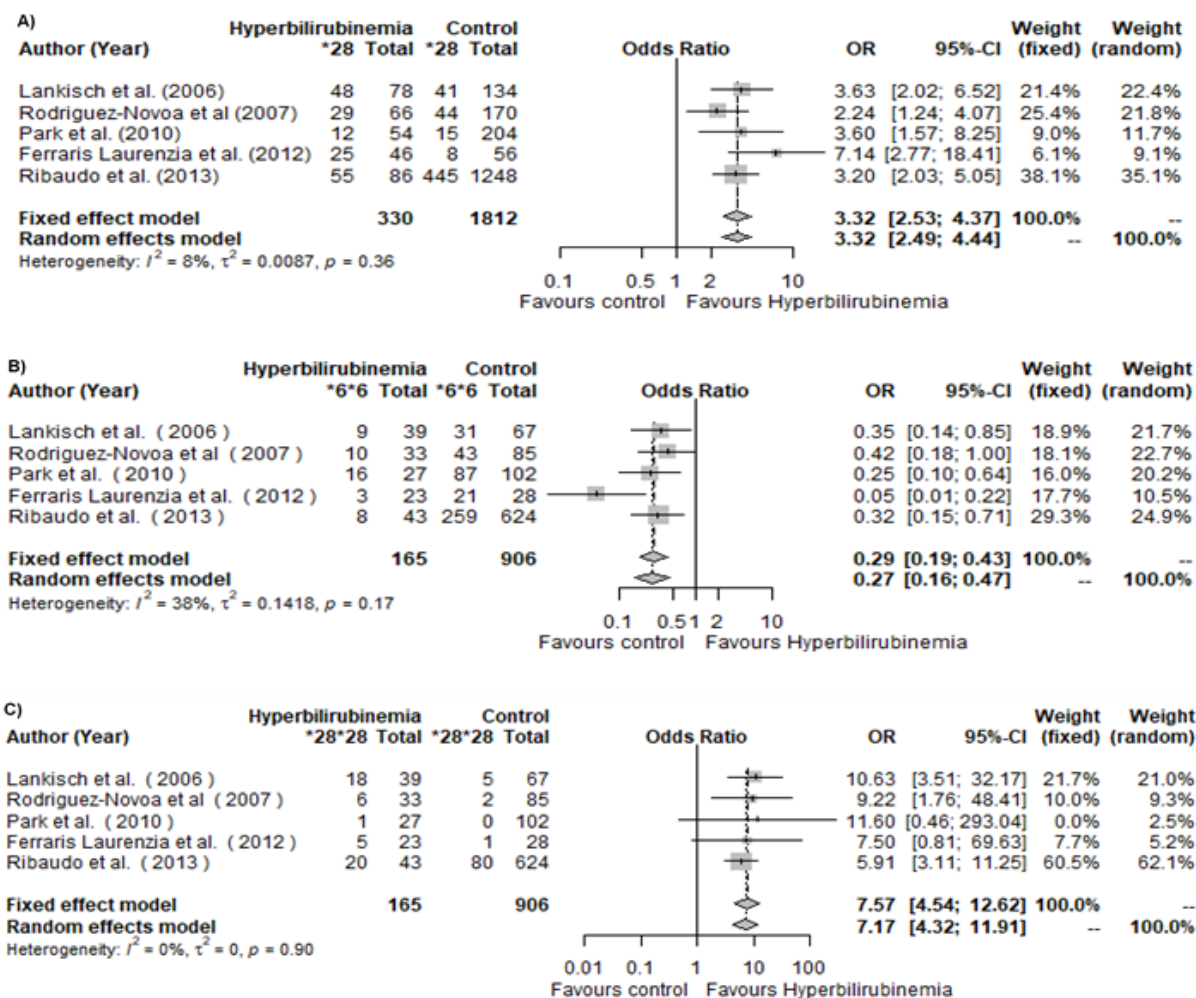


Figura 20. Metanálise da associação entre o alelo UGT1A1*28 e hiperbilirrubinemia induzida pelo atazanavir: (A) alelo *28 vs. *6; (B) *6*6 vs. *28__; (C) *28*28 vs. *6_.

4.1.6 Farmacogenética da HAART

- Revisão sistemática da farmacogenética da HAART

Estudos nos quais o antirretroviral não foi especificado foram agrupados como HAART, Terapia com INTRs, Terapia com INTRs/INNTRs e Terapia com inibidores de protease (Tabela 8). Nenhum dos fenótipos relacionados preencheu os critérios para inclusão na metanálise.

Tabela 8. Revisão sistemática de estudos de associação farmacogenética da resposta clínica à HAART, à terapia com INTRs, à terapia com INTRs/INNTRs e à terapia com inibidores de protease.

Droga	Fenótipo	Autores	Ancestralidade	Amostra (caso/controlado)	Gene	Variante
HAART	↑Lipídios plasmático	Arnedo <i>et al.</i> , 2007 ²²³	Caucasian(88.4%); Black(6.6%); Hispanic(2.3%); Asian(2.5%); Unknown/other(0.2%)	438	ABCA1	2962 GA
					APOA	APOA5(non-*1/*1)
					APOC	APOC3
					APOE	APOE
					CETP	279 GA; -629 CA
					ADRB2	265A>G; 298C>G
					LIPC	-250G>A
					LIPG	584C>T
					LPL	1595G>C
					ABCB1	3435C>T -rs1045642
	MTP	-493G>T				
	SCARB1	41C>T				
	TNF	-308G>A				
	CYP3A4	392A>G				
	CYP2B6	516G>T -rs3745274; 785A>G -rs2279343				
	Eficácia terapêutica (↓ carga viral / ↑ células T-CD4 ⁺)	Parathyras <i>et al.</i> , 2009 ²²⁴	South Africa	126	ABCB1	-129T>C; 2677G>A -rs2032582; 1236C>T -rs1128503; 3435C>T -rs1045642
		Frasco <i>et al.</i> , 2012 ²²⁵	European; Asian; Yoruban; non-Yoruban African	91	CYP2B6	rs3211370; rs3211397; rs36079186; rs34128717; rs3211374; rs3211371; rs8192709; rs34097093; rs1042389; rs3745274; rs28399499
	Reações adversas	Bushyakanist <i>et al.</i> , 2015 ¹⁷³	Thailand	129	CYP2B6	c.516G.T; c.64C.T; c.499C.G; c.1375A.G; c.1459C.T; g.3003T.C; g.21563C.T; c.785A.G
					HLA-B	*3505; *5701; *4001
Disfunção tubular renal	da Rocha <i>et al.</i> , 2015 ²²⁶	Euro-descendants (280) Afro-descendants (227) (Brazil)	507	ABCB1	c.3435C>T(rs1045642)	
				ABCC2	g.-24C>T(rs717620); c.1249G>A(rs2273697)	
				ABCC4	c.3463A>G(rs1751034); c.4131T>G(rs3742106)	
				SLC22A6	c.728G>A(rs11568626)	
				SLC22A11	-20kbT>A(rs11231809)	
Terapia com INTRs	Neuropatia periférica	Canter <i>et al.</i> , 2007 ²²⁷	white (non-Hispanic)	250(70/180)	MTND2	*LHON(4917G)
	Intolerância	Arruda <i>et al.</i> , 2016 ²²⁸	Brazilians	764	MTND1	*LHON(4216C)
	Eficácia terapêutica (↓ carga viral)	Pierce <i>et al.</i> , 2017 ²²⁹	African-American; Hispanic; NonHispanic white	37(29/8)	SLCO2B1	rs2712816; rs12422149; rs1676885; rs949069
					CYP2C9	rs78447620
					UGT1A1	rs10203853
					ADH1A	rs114188790
					ABCB1	rs1016793
					CYP1A2	rs16972486
					CYP2A6	rs11083571
					CYP2B6	rs148033691
CYP2C19	rs4494250					
CYP2D6	rs5751221					
CYP3A4	rs6956344					
CYP3A5	rs12334072					
NR1I2	rs147905983					
Terapia com INTRs/INNTRs	Eficácia terapêutica (↓ carga viral)	Pierce <i>et al.</i> , 2017 ²²⁹	African-American; Hispanic; NonHispanic White	166(113/53)	UGT1A1	rs10203853
					ADH1A	rs114188790
					ABCB1	rs1016793
					CYP1A2	rs16972486
					CYP2A6	rs11083571
					CYP2D6	rs5751221
					CYP3A4	rs6956344
					CYP3A5	rs1233407
NR1I2	rs147905983					

Terapia com inibidores de protease	↑Lipídios plasmático	Foulkes <i>et al.</i> , 2006 ²³⁰	Black/non-Hispanic; White/non-Hispanics; Hispanics	626	apoA-I apoC-III	apoA-I -384; -355; -482; -455;
	Eficácia terapêutica (↓carga viral)	Coelho <i>et al.</i> , 2013 ²³¹	Brazil (caucasian; afro-descendant)	187(27/160)	ABCB1	3435C>T -rs1045642; rs3842
ABCC1					198217T>C; 30-UTR - rs212091; rs3743527	
CYP2B6					rs3745274	
SLC22A1					rs628031	
SLCO3A1					rs1517618	
CYP2B6					rs148033691	
Pierce <i>et al.</i> , 2017 ²²⁹		African-American; Hispanic; NonHispanic White	366(193/173)	CYP19	rs4494250	
				CYP2C9	rs78447620	
				UGT1A1	rs10203853	
				ADH1A	rs114188790	
				ABCB1	rs1016793	
				CYP1A2	rs16972486	
				CYP2A6	rs11083571	
Arruda <i>et al.</i> , 2016 ²²⁸	Brazilians	764	CYP2D6	rs5751221		
			CYP3A4	rs6956344		
			CYP3A5	rs12334072		
Intolerância				NR1I2	rs147905983	
				ABCC2	ABCC2(rs4148396; rs3740066)	

4.1.7 Resumo dos resultados das metanálises

Tabela 9: Resumo dos resultados das metanálises realizadas. Em negrito estão os resultados que foram estatisticamente significativos.

Droga	Fenótipo	Gene	Variante (efeito determinante)	O.R. (I.C 95%)
Abacavir	Reação de hipersensibilidade	HLA-B	*5701 (Presença de pelo menos 1 alelo)	28,51 (9,95-81,71)
Tenofovir	Disfunção tubular renal	ABCB1 ABCC2 ABCC4 ABCC10	2677G>T (Presença do alelo G) 1249G>A (Presença do alelo G) -24C>T (Presença do alelo C) 3348A>G (Genótipo GG)	1,20 (0,67-2,13) 0,78 (0,40-1,53) 1,08 (0,67-1,76) 2,98 (1,41- 6,28)
Efavirenz	Efeitos adversos no sistema nervoso central	CYP2B6	516G>T (Genótipo TT)	2,10 (1,04-4,24)
Nevirapina	Reação de hipersensibilidade	HLA-Cw HLA-DRB CYP2B6	*0401 (Presença de pelo menos 1 alelo) *1 (Presença de pelo menos 1 alelo) 516G>T (Genótipo TT ou TG)	2,98 (2,18-4,08) 2,52 (1,29-4,91) 0,78 (0,47-1,30)
Atazanavir	Hiperbilirrubinemia	UGT1A1	UGT1A1*28 (Genótipo *28*28)	7,17 (4,32-11,91)

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

4.2 Estudo de associação genética primário

4.2.1 Características epidemiológicas dos participantes do estudo

As características demográficas dos 291 pacientes que fizeram parte do estudo estão especificadas na Tabela 10. A amostra consistiu em 165 (57%) homens e 126 (43%) mulheres, com a média de idade ao diagnóstico de 35 anos e no momento de início da HAART de 36 anos. Entre todos os participantes, 122 (42%) são pardos e a maioria, 212 indivíduos (74%), oriundos da Bahia.

Tabela 10: Características clínicas e epidemiológicas da população em estudo.

Características epidemiológicas	
Sexo n(%)	
Masculino	165(0,57)
Feminino	126(0,43)
Idade ao diagnóstico HIV (média / mediana / dp) anos	
Geral	35 / 34 / 11
Homens	36 / 35 / 10
Mulheres	35 / 33 / 12
Idade ao início tratamento (média/mediana/dp) anos	
Geral	36 / 35 / 11
Homens	36 / 35 / 10
Mulheres	35 / 34 / 13
Ancestralidade autodeclarada n(%)	
Pardo	122(0,42)
Branco	60(0,21)
Negro	35(0,12)
Amarelo	3(0,01)
Indígena	3(0,01)
Não informado	68(0,23)
Estado de origem n(%)	
BA	212(0,74)
Outros	78(0,25)
Não informado	3(0,01)

4.2.2 Características clínicas dos participantes do estudo

A média da contagem de linfócitos T-CD4⁺ ao diagnóstico foi de 365 células/mm³ e da carga viral 156.524 cópias/mL (2,19 log cópias/mL). As últimas contagens de CD4⁺ e carga viral disponíveis foram, em média, 640 células/mm³ e 3.220 cópias/mL (0,50 log cópias/mL), respectivamente (Tabela 11). Foram utilizados 53 esquemas terapêuticos diferentes durante o período de avaliação no ambulatório (Apêndice 4, Tabela S1). O esquema mais comum registrado foi zidovudina, lamivudina e efavirenz (AZT+3TC+EFZ) (n = 959) seguido por tenofovir, lamivudina e efavirenz (TDF+3TC+EFZ) (n = 755).

Tabela 11: Características clínicas dos pacientes

Características clínicas	
Contagem de linfócitos T-CD4⁺ ao diagnóstico (células/mm³)	
Média / mediana / dp (n)	365 / 323 / 289 (291)
Pacientes com a contagem n(%):	
≤100	59(0,20)
>100 ou ≤200	39(0,13)
>200 ou ≤350	57(0,20)
>350 ou ≤500	67(0,23)
>500	69(0,24)
Contagem basal de linfócitos T-CD4⁺ (células/mm³)	
Média / mediana / dp (n)	289 / 277 / 205 (261)
Pacientes com a contagem n(%):	
≤100	57(0,22)
>100 ou ≤200	40(0,15)
>200 ou ≤350	75(0,29)
>350 ou ≤500	59(0,23)
>500	30(0,11)
Última contagem de linfócitos T-CD4⁺ (células/mm³)	
Média / mediana / dp (n)	640 / 613 / 295 (291)
Pacientes com a contagem n(%):	
≤100	5(0,02)
>100 ou ≤200	9(0,03)
>200 ou ≤350	34(0,12)
>350 ou ≤500	49(0,17)
>500	194(0,67)
Carga viral ao diagnóstico (HIV-1 cópias/mL)	
Média / mediana / dp (n)	156.524 / 20.949 / 540.744 (291)
Pacientes com carga viral ≥10.000 n(%)	172(0,59)
Pacientes com carga viral indetectável n(%)	15(0,05)
Carga viral basal (HIV-1 cópias/mL)	
Média / mediana / dp (n)	178.713 / 30.746 / 288.782 (261)

Pacientes com carga viral ≥ 10.000 n(%)	184(0,70)
Pacientes com carga viral indetectável n(%)	2(0,07)
Última carga viral (HIV-1 cópias/mL)	
Média / mediana / dp (n)	3.220 / 50 / 38.199 (291)
Pacientes com carga viral ≥ 10.000 n(%)	6(0,02)
Pacientes com carga viral indetectável n(%)	255(0,88)
Tempo de acompanhamento no ambulatório	
Média / mediana / dp (dias) (n)	2.420 / 1.897 / 1.710 (291)
Tempo mínimo/máximo de acompanhamento (dias)	136 / 8.239
Pacientes com o tempo de acompanhamento (anos) n(%):	
≤1	6(0,28)
>1 ou ≤3	76(0,26)
>3 ou ≤5	59(0,20)
>5	150(0,52)
Tempo de tratamento	
Média / mediana / dp (dias) (n)	2.176 / 1.727 / 1.636 (291)
Pacientes com o tempo de tratamento (anos) n(%):	
≤1	11(0,04)
>1 ou ≤3	85(0,29)
>3 ou ≤5	61(0,21)
>5	133(0,46)
Regime terapêutico contendo pelo menos	
INTR	290(0,99)
INNTR	210(0,72)
Inibidor de protease	74(0,25)
Inibidor de integrase	66(0,22)
INTR+INNTR	100(0,34)
INTR+Inibidor de protease	89(0,30)
INTR+Inibidor de integrase	50(0,17)
Abacavir	11(0,04)
Tenofovir	206(0,71)
Efavirenz	202(0,69)
Nevirapina	12(0,04)
Atazanavir	65(0,22)

Os pacientes foram agrupados em ≤ 200 , ≤ 350 , ≤ 500 e > 500 células/mm³ com base em suas contagens de CD4⁺ ao diagnóstico. Do mesmo modo, realizou-se a estratificação com base na CD4⁺ no início da HAART (CD4⁺ basal) e registrou-se, em cada respectivo estrato, o n(%) de indivíduos que alcançaram os valores de ≤ 200 , ≤ 350 , ≤ 500 e > 500 células/mm³, em um período de até, aproximadamente, 6 anos de tratamento (com base na última CD4⁺ disponível) (Figura 21). Entre os indivíduos com CD4⁺ basal ≤ 200 , 42% alcançou valores > 500 células/mm³; enquanto 93% dos indivíduos com CD4⁺ basal > 500 permaneceram com a contagem de CD4⁺ > 500 células/mm³ ao final de, aproximadamente, 6 anos de tratamento.

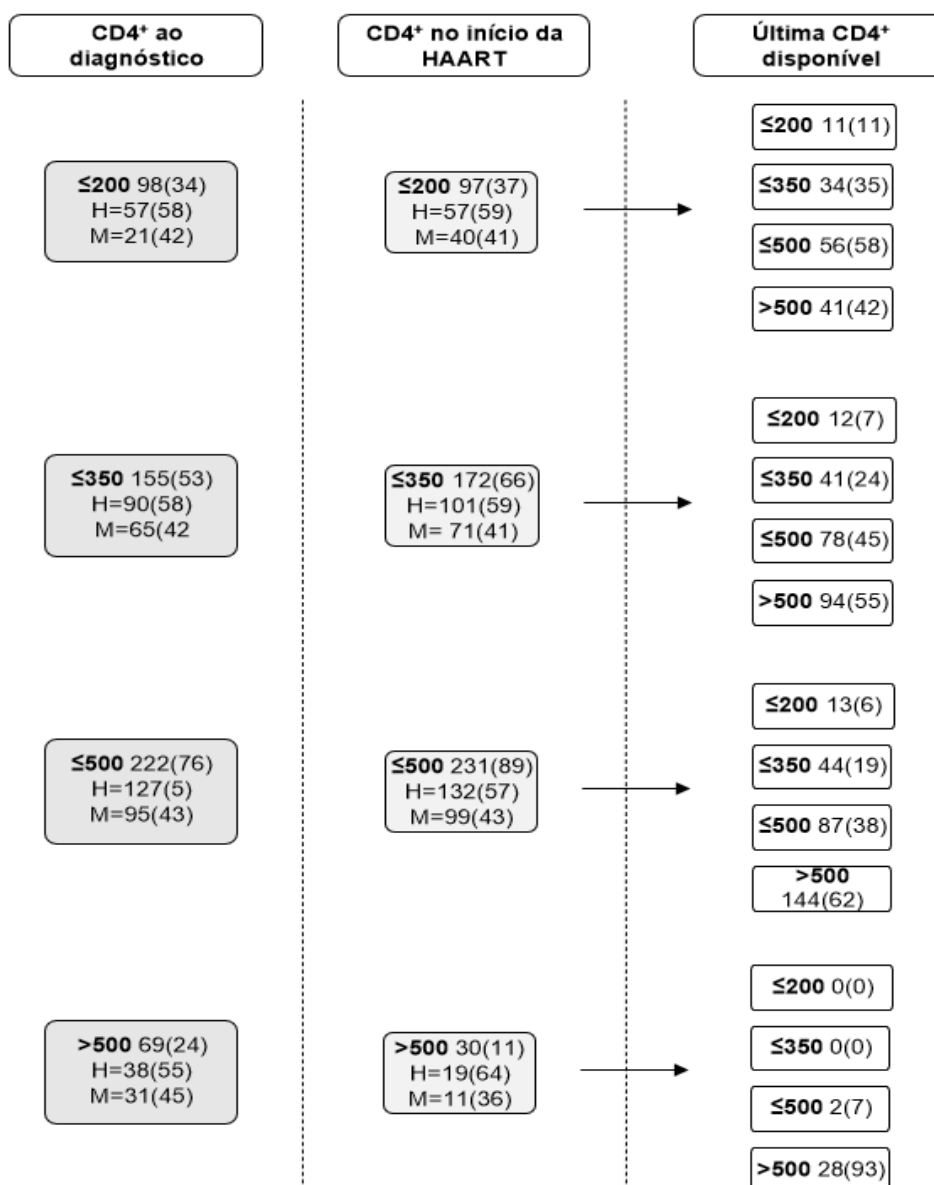


Figura 21: Cinética da contagem de linfócitos T-CD4⁺ (células/mm³) a partir do diagnóstico ao último registro de CD4⁺ disponível. Nota-se que entre os pacientes que se apresentaram ao ambulatório com valores de até 200 células, menos da metade recuperou para valores acima de 500 células/mm³. H=homens e M=mulheres; n(%).

4.2.3 Frequências alélicas e genóticas dos SNPs investigados

Todos os voluntários foram genotipados para os cinco SNPs selecionados. Foram calculadas a frequência alélica e genotípica e os SNPs foram testados quanto ao Equilíbrio de Hardy Weinberg; todos demonstraram estar em equilíbrio (Tabela 12).

Tabela 12: Frequência alélica, genotípica e cálculo do Equilíbrio de Hardy Weinberg para os SNPs selecionados.

Variante		Frequência n(%)	Equilíbrio de Hardy Weinberg	Dados faltantes n(%)
ABCB1 3435C>T (rs1045642)	C/C	108(0,37)	0,4626	3(0,01)
	C/T	132(0,45)		
	T/T	48(0,17)		
	C	(0,60)		
CYP2B6 516G>T (rs3745274)	G/G	122(0,42)	0,2701	25(0,09)
	G/T	110(0,38)		
	T/T	34(0,12)		
	G	(0,67)		
TNF α -308G>A (rs1800629)	G/G	208(0,72)	0,4389	11(0,04)
	G/A	69(0,24)		
	A/A	3(0,01)		
	G	(0,87)		
TNF α -238 G>A (rs361525)	G/G	252(0,87)	0,1783	11(0,04)
	G/A	26(0,09)		
	A/A	2(0,006)		
	G	(0,95)		

n(%); n, number of individuals.

4.2.4 Estatísticas univariadas para analisar a contribuição de variáveis clínicas e epidemiológicas sobre a dinâmica dos linfócitos T-CD4⁺ ao longo do tempo de tratamento.

Variáveis clínicas e epidemiológicas foram avaliadas individualmente utilizando um modelo linear de efeito aleatório (Tabela 13). O tempo de tratamento apresenta um efeito positivo no valor médio de CD4⁺ esperado. Para cada um ano de tratamento observou-se um acréscimo de, aproximadamente, 33 células/mm³ na média de CD4⁺. A respeito da influência da carga viral sobre a contagem de CD4⁺ ao longo do tempo observou-se que o acréscimo de 10.000 cópias levou a diminuição em média, aproximadamente, 300 células/mm³ de CD4⁺. É importante notar que o modelo para carga viral foi ajustado na escala logarítmica (log₁₀) e por isso sua interpretação em número de cópias não é linear.

Tabela 13: Análise univariada por modelo linear de efeito aleatório para a contribuição de variáveis clínicas e epidemiológicas sobre a dinâmica de linfócitos T-CD4⁺ (células/mm³) ao longo do tempo de tratamento.

Variável		n (%)	Coefficiente	Ep Coef	GL	t	p		
Sexo (n=291)	Feminino	126(0,43)	588,61	22,26	2337	26	0,0501		
	Masculino	165(0,57)	-58,39	29,68	288	-2			
Idade ao diagnóstico (n=291)	Intercepto		653,89	48,05	2337	14	0,0032		
	Idade (anos)	291(100)	-2,83	1,32	288	-2			
Idade ao início tratamento (n=291)	Intercepto		653,52	49,79	2337	13	0,0408		
	Idade (anos)	291(100)	-2,75	1,34	288	-2			
Ancestralidade autodeclarada (n=222)	Amarela	3(0,01)	604,97	144,60	1833	4	0.944		
	Branco	60(0,21)	-13,76	148,31	217	0			
	Indígena	3(0,01)	1,13	203,73	217	0			
	Negro	35(0,12)	-47,32	150,70	217	0			
Carga viral, cópias/mL (n=291)	Intercepto		698,13	17,66	2336	40	<0,0001		
	Carga viral log ₁₀	291(100)	-75,00	5,28	2336	-14			
	Tempo de tratamento (n=291)	Intercepto		465,55	15,73	2336		30	<0,0001
	Tempo (dias)	291(100)	0,09	0,00	2336	20			
Inibidor de Protease (n=291)	Não	1398	535,96	15,39	2330	35	<0,0001		
	Sim	555	84,90	14,89	2330	6			
TDF+3TC+EFZ (n=291)	Não	1501	539,20	15,83	2330	34	0,004		
	Sim	452	52,74	18,12	2330	3			
Tenofovir (n=291)	Não	1174	495,52	17,15	2330	29	<0,0001		
	Sim	779	103,48	14,09	2330	7			
Efavirenz (n=291)	Não	759	607,68	17,20	2330	35	<0,0001		
	Sim	1194	-92,35	14,76	2330	-6			

- n, número de indivíduos; Ep, erro padrão; GL, graus de liberdade

- p<0,2 considerado limite de corte para a análise multivariada

A Figura 22 ilustra (A) a dinâmica de CD4⁺ ao longo do tempo de tratamento, com um incremento de CD4⁺ mais rápido no primeiro ano e um platô por volta do quarto ano de tratamento. Os níveis médios de CD4⁺ foram maiores entre as mulheres comparado com os homens. O uso de (C) TDF+3TC+EFZ, (D) Inibidores de Protease e (E) Tenofovir foram associados a um aumento significativo na média de CD4⁺ ao longo do tempo; enquanto o uso do (F) Efavirenz foi associado à uma queda.

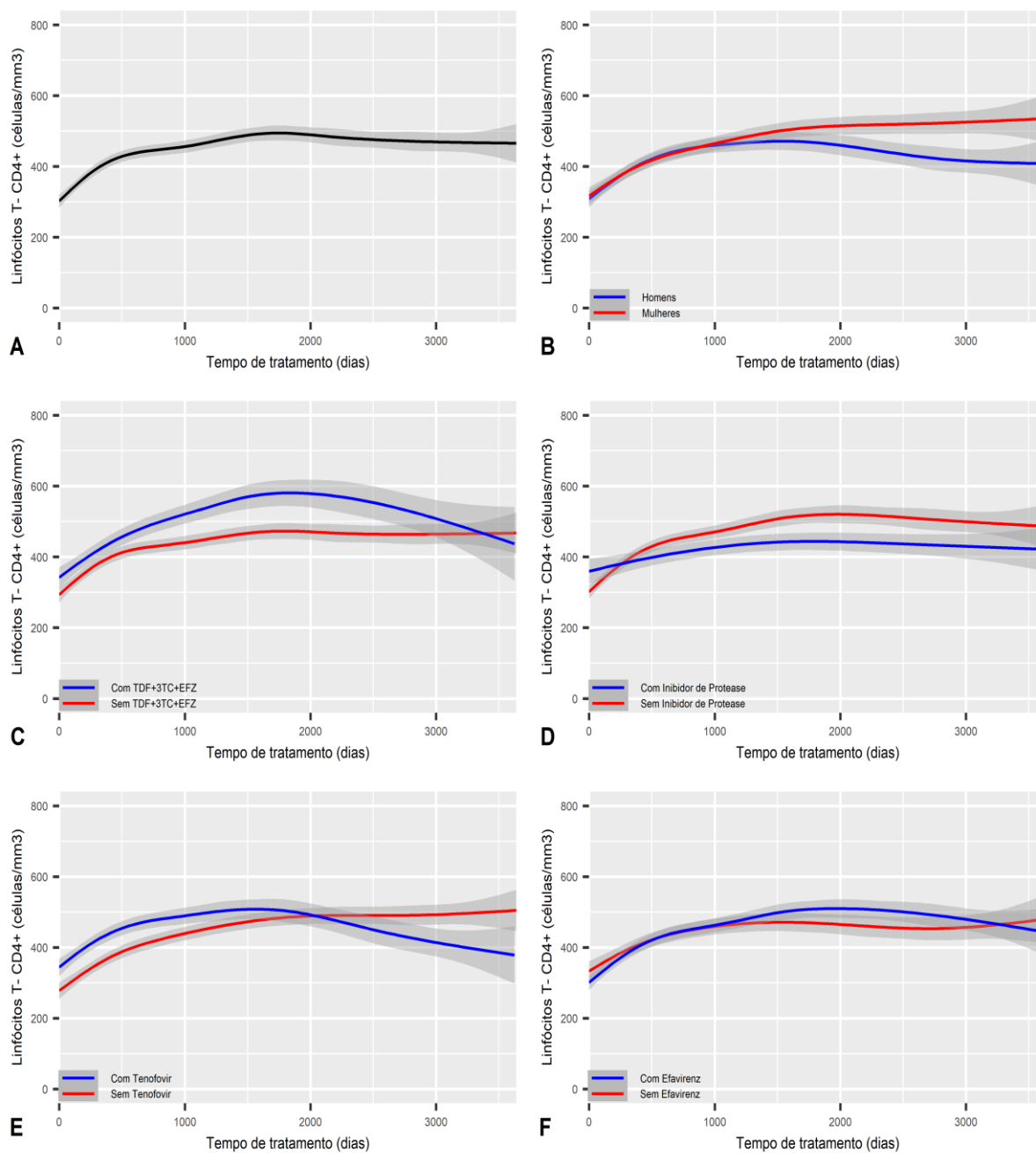


Figura 22: Análise da contribuição de variáveis clínicas e epidemiológicas sobre a contagem média de linfócitos T-CD4⁺ (células/mm³) ao longo de até 3.651 dias de tratamento. (A) Dinâmica de CD4⁺ ao longo do tempo de tratamento (n=291). A contagem média de CD4⁺ foi agrupada por (B) Sexo (Homens n=165/Mulheres n=126); uso de (C) TDF+3TC+EFZ (Com n=101/Sem n=190); (D) Inibidores de Protease (Com n=74/Sem n=217); (E) Tenofovir (Com n=206/Sem n=85) e (F) Efavirenz (Com n=202/Sem n=89). Os valores de CD4⁺ no tempo zero correspondem às contagens basais de CD4⁺. As linhas azuis e vermelhas são as médias estimadas da contagem de CD4⁺ para cada fator e a região cinza é o intervalo de confiança de 95%.

4.2.5 Estatísticas univariadas para analisar a contribuição de variáveis genéticas sobre a dinâmica dos linfócitos T-CD4⁺ ao longo do tempo de tratamento.

Com o intuito de observar qual estrutura genotípica melhor explicaria a dinâmica de CD4⁺ ao longo do tempo de tratamento foram propostos os modelos dominância, recessividade, codominância, heterosigozidade e de efeito aditivo para cada SNP investigado. Como apresentado da Tabela 14, nenhum dos modelos criados para os quatro SNPs investigados exerceu influência significativa sobre o fenótipo em questão. Com base nos critérios preestabelecidos, o modelo de dominância do alelo G do SNP CYP2B6 516G>T foi elegível para a estatística multivariada pois apresentou valor de $p \leq 0,2$.

Tabela 14: Análise univariada por modelo linear de efeito aleatório para a contribuição de variáveis genéticas sobre a dinâmica de linfócitos T-CD4⁺ (células/mm³) ao longo do tempo de tratamento. Foram analisados os modelos genotípicos criados (dominância, recessividade, codominância, heterosigozidade e de efeito aditivo) para os SNPs selecionados.

Variante	Modelo	Grupo	Coefficiente	Ep Coef	GL	t	p
ABCB1 3435C>T (rs1045642)	Dominante C	C/C + C/T	554,19	16,40	2325	33,79	0,9048
		T/T	4,79	39,98	285	0,12	
	Recessivo C	C/T+ T/T	547,93	18,80	2325	29,14	0,5251
		C/C	19,23	31,00	285	0,62	
	Codominante	C/C	567,16	24,69	2325	22,97	0,7756
		C/T	-23,24	33,06	284	-0,70	
		T/T	-8,17	44,07	284	-0,19	
	Heterose	C/C + T/T	564,59	20,42	2325	27,65	0,4928
		C/T	-20,67	29,98	285	-0,69	
	Modelo aditivo C	2	567,16	24,69	2325	22,97	0,7756
1		-23,24	33,06	284	-0,70		
0		-8,17	44,07	284	-0,19		
CYP2B6 516G>T (rs3745274)	Dominante G	G/G + G/T	544,24	16,58	2187	32,82	0,1884
		T/T	62,13	47,11	263	1,32	
	Recessivo G	G/T+ T/T	554,54	21,25	2187	26,10	0,8572
		G/G	-5,63	31,23	263	-0,18	
	Codominante	G/G	548,91	22,85	2187	24,02	0,4033
		G/T	-9,93	33,28	262	-0,30	
		T/T	57,45	49,73	262	1,16	
	Heterose	G/G + T/T	561,04	20,30	2187	27,63	0,4858
		G/T	-22,05	31,59	263	-0,70	
	Modelo aditivo G	2	548,91	22,85	2187	24,02	0,4033
1		-9,93	33,28	262	-0,30		
0		57,45	49,73	262	1,16		

TNFα -308G>A (rs1800629)	Dominante G	G/G + G/A	553,35	14,96	2274	36,98	0,2885
		A/A	-151,23	142,21	277	-1,06	
	Recessivo G	G/A+ A/A	534,71	29,58	2274	18,08	0,5074
		G/G	22,72	34,24	277	0,66	
	Codominante	G/G	557,44	17,25	2274	32,32	0,5082
		G/A	-16,67	34,82	276	-0,48	
		A/A	-155,33	142,67	276	-1,09	
	Heterose	G/G + A/A	555,17	17,12	2274	32,42	0,6790
		G/A	-14,40	34,77	277	-0,41	
	Modelo aditivo G	2	557,44	17,25	2274	32,32	0,5082
1		-16,67	34,82	276	-0,48		
0		-155,33	142,67	276	-1,09		
TNFα -238 G>A (rs361525)	Dominante G	G/G + G/A	556,24	15,14	2253	36,73	0,7567
		A/A	58,05	187,17	277	0,31	
	Recessivo G	G/A+ A/A	569,56	48,59	2253	11,72	0,7796
		G/G	-14,32	51,12	277	-0,28	
	Codominante	G/G	555,24	15,91	2253	34,91	0,9986
		G/A	11,06	52,86	276	0,21	
		A/A	59,03	187,52	276	0,31	
	Heterose	G/G + A/A	555,67	15,83	2253	35,11	0,9592
		G/A	10,64	52,76	277	0,20	
	Modelo aditivo G	2	555,24	15,91	2253	34,91	0,9986
1		11,06	52,86	276	0,21		
0		59,03	187,52	276	0,31		

- n, número de indivíduos; Ep, erro padrão; GL, graus de liberdade

- p<0,2 considerado limite de corte para a análise multivariada

Abaixo, os gráficos para cada modelo genotípico proposto para cada SNP.

A dinâmica de CD4⁺ não foi diferente entre os genótipos ou grupos genotípicos para cada um dos modelos: (A) codominância, (B) dominância do alelo C e (C) recessividade do alelo C, do SNP ABCB1 3435C>T (rs1045642) (Figura 23).

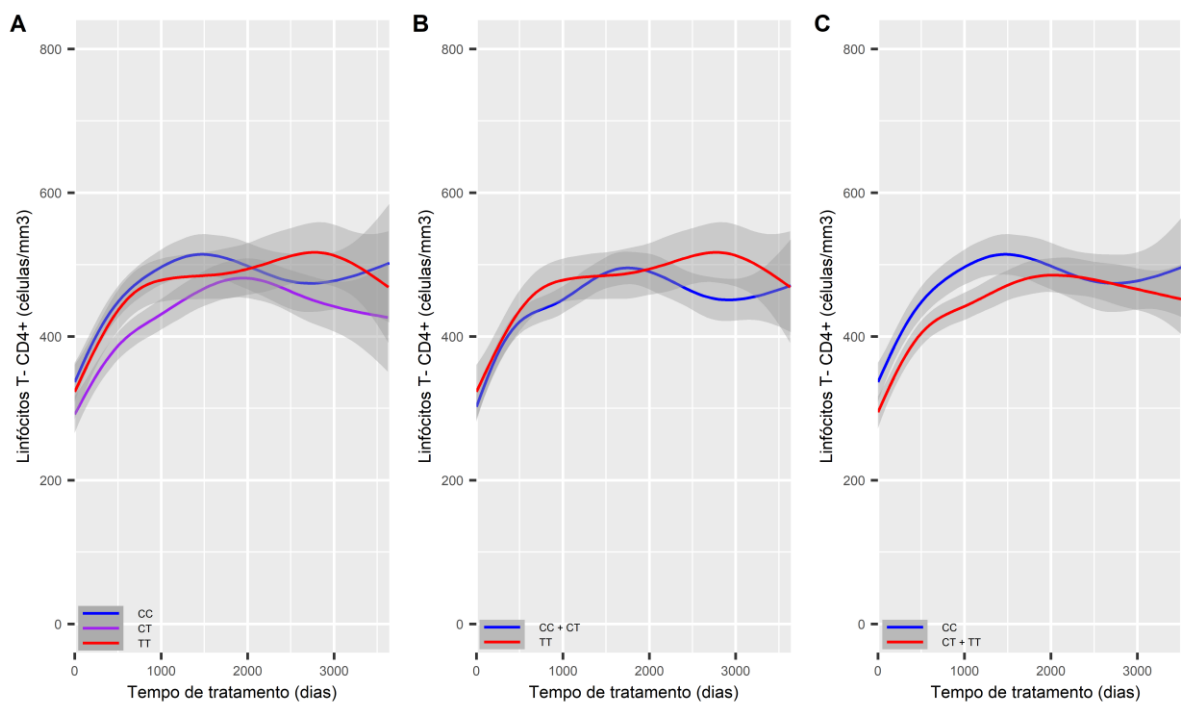


Figura 23: Análise da contribuição dos diferentes modelos genotípicos para o SNP ABCB1 3435C>T, sobre a contagem média de linfócitos T-CD4⁺ (células/mm³) ao longo de até 3.651 dias de tratamento. Os pacientes foram agrupados pela variante assumindo (A) Codominância (CC n=108, CT n=132, TT n=48); (B) Dominância do alelo C (CC+CT n=240, TT n=48) e (C) Recessividade do alelo C (CC n=108, CT+TT n=180). Os valores de CD4⁺ no tempo zero correspondem às contagens basais de CD4⁺. As linhas azuis, vermelhas e roxa são as médias estimadas da contagem de CD4⁺ para cada fator e a região cinza é o intervalo de confiança de 95%.

A dinâmica de CD4⁺ não foi diferente entre os genótipos ou grupos genotípicos para cada um dos modelos: (A) codominância, (B) dominância do alelo G e (C) recessividade do alelo G, do SNP CYP2B6 516G>T (rs3745274) (Figura 24).

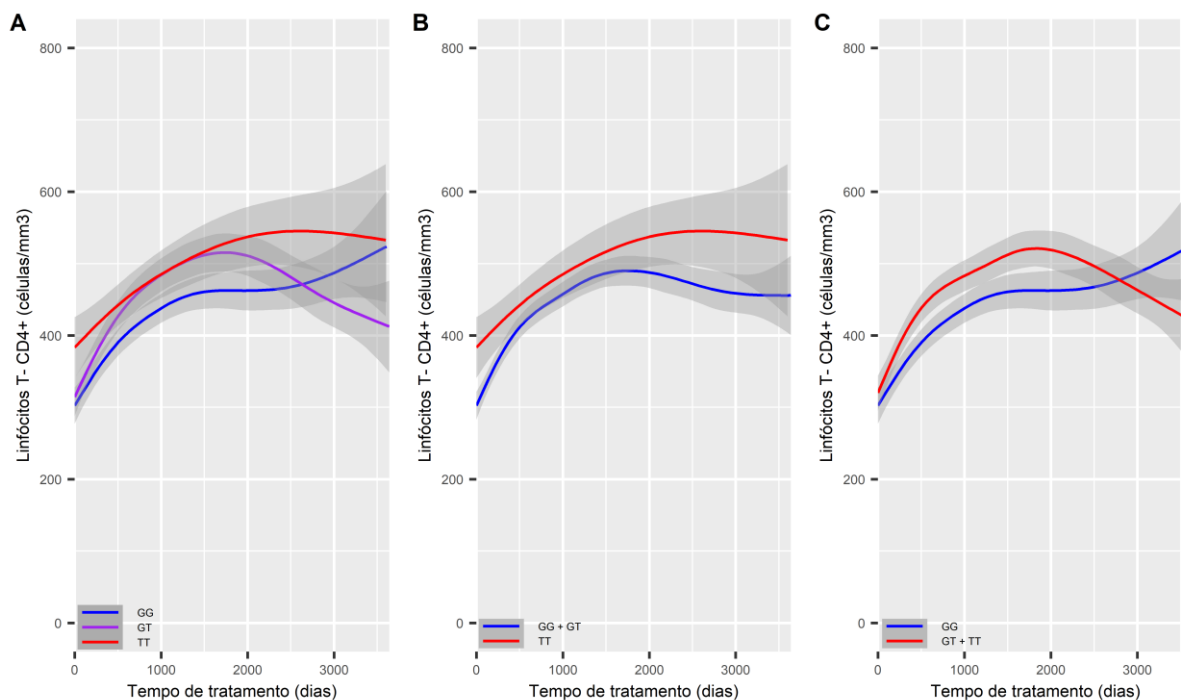


Figura 24: Análise da contribuição dos diferentes modelos genotípicos para o SNP CYP2B6 516G>T, sobre a contagem média de linfócitos T-CD4⁺ (células/mm³) ao longo de até 3.651 dias de tratamento. Os pacientes foram agrupados pela variante assumindo (A) Codominância (GG n=122, GT n=110, TT n=34); (B) Dominância do alelo C (GG+GT n=232, TT n=34) e (C) Recessividade do alelo C (GG n=122, GT+TT n=144). Os valores de CD4⁺ no tempo zero correspondem às contagens basais de CD4⁺. As linhas azuis, vermelhas e roxa são as médias estimadas da contagem de CD4⁺ para cada fator e a região cinza é o intervalo de confiança de 95%.

A dinâmica de CD4⁺ não foi diferente entre os genótipos ou grupos genotípicos para cada um dos modelos: (A) codominância, (B) dominância do alelo G e (C) recessividade do alelo G, do SNP TNF- α -308G>A (rs1800629) (Figura 25).

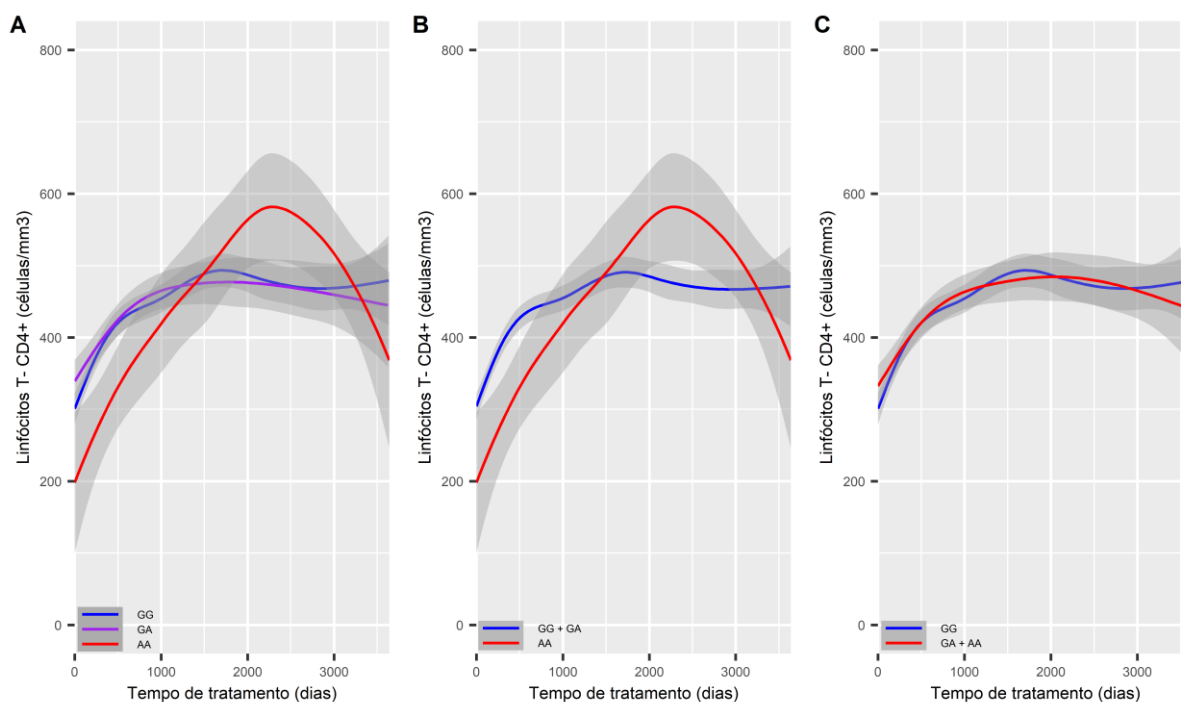


Figura 25: Análise da contribuição dos diferentes modelos genotípicos para o SNP TNF α -308G>A, sobre a contagem média de linfócitos T-CD4⁺ (células/mm³) ao longo de até 3.651 dias de tratamento. Os pacientes foram agrupados pela variante assumindo (A) Codominância (GG n=209, GA n=68, AA n=3); (B) Dominância do alelo C (GG+GA n=277, AA n=3) e (C) Recessividade do alelo C (GG n=209, GA+AA n=71). Os valores de CD4⁺ no tempo zero correspondem às contagens basais de CD4⁺. As linhas azuis, vermelhas e roxa são as médias estimadas da contagem de CD4⁺ para cada fator e a região cinza é o intervalo de confiança de 95%.

A dinâmica de CD4⁺ não foi diferente entre os genótipos ou grupos genotípicos para cada um dos modelos: (A) codominância, (B) dominância do alelo G e (C) recessividade do alelo G, do SNP TNF- α -238G>A (rs361525). Nota-se que o intervalo de confiança do genótipo AA não foi estimado porque só havia um indivíduo (Figura 26).

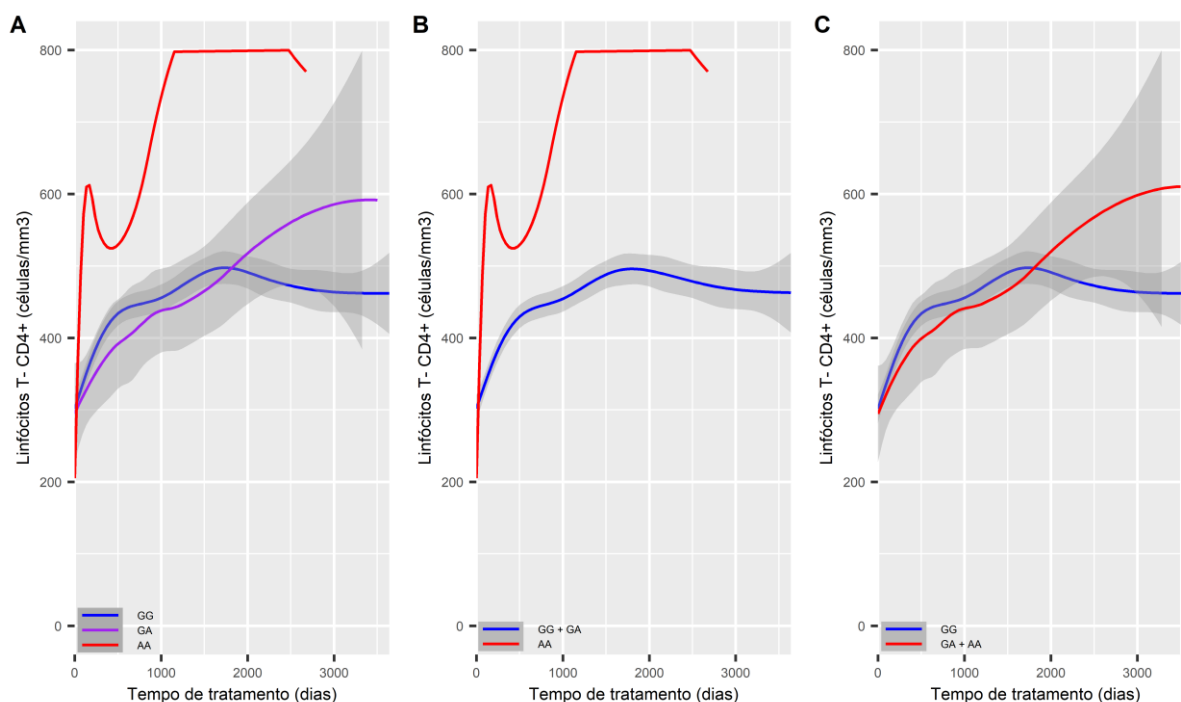


Figura 26: Análise da contribuição dos diferentes modelos genotípicos para o SNP TNF α -238G>A, sobre a contagem média de linfócitos T-CD4⁺ (células/mm³) ao longo de até 3.651 dias de tratamento. Os pacientes foram agrupados pela variante assumindo (A) Codominância (GG n=252, GA n=26, AA n=2); (B) Dominância do alelo C (GG+GA n=278, AA n=2) e (C) Recessividade do alelo C (GG n=252, GA+AA n=28). Os valores de CD4⁺ no tempo zero correspondem às contagens basais de CD4⁺. As linhas azuis, vermelhas e roxa são as médias estimadas da contagem de CD4⁺ para cada fator e a região cinza é o intervalo de confiança de 95%.

4.2.6 Análise estatística multivariada

Após as análises acima, implementou-se um modelo linear de efeito aleatório, inicialmente incluindo as variáveis sexo, tempo de tratamento, idade ao diagnóstico, idade ao início tratamento, carga viral (log₁₀), TDF+3TC+EFZ; esquemas incluindo tenofovir, esquemas incluindo efavirenz e CYP2B6-rs3745274. Embora associada ao fenótipo na univariada, a variável inibidor de protease foi administrativamente excluída da análise multivariada. Assim, optou-se por manter a variável Efavirenz, uma vez que

ambas não puderam permanecer no mesmo modelo por serem, na amostra estudada, praticamente excludentes, ocasionando em erro. O resultado desse modelo encontra-se na Tabela 15, no qual apenas as variáveis listadas foram significativamente associadas ao processo de recuperação imune ($p < 0,05$).

Tabela 15: Análise multivariada por modelo linear de efeito aleatório para a contribuição de variáveis clínicas e epidemiológicas sobre a dinâmica de CD4⁺ ao longo do tempo de tratamento.

Variável	Coefficiente	Ep Coef	GL	t	p
Intercepto	726,84	49,59	2328	14,66	<0,001
Tempo de tratamento (dias)	0,08	0,00	2328	17,21	<0,001
Idade ao diagnóstico (anos)	-3,19	1,30	288	-2,46	0,0145
Carga viral log ₁₀ (cópias/mL)	-57,17	5,06	2328	-11,30	<0,001
Efavirenz	-51,59	13,72	2328	-3,76	0,0002

- n, número de indivíduos; Ep, erro padrão; GL, graus de liberdade

Com o intuito de propor um modelo que incluísse somente variáveis presentes no momento da admissão do paciente, foi gerado um novo modelo sem as variáveis que são sabidamente influenciadoras do desfecho, que são a carga viral e o tempo de tratamento (Tabela 16).

Tabela 16: Análise multivariada por modelo linear de efeito aleatório para a contribuição de variáveis clínicas e epidemiológicas sobre a dinâmica de CD4⁺ ao longo do tempo de tratamento. Nesse modelo, as variáveis Tempo de tratamento e Carga viral foram excluídas.

Variável	Coefficiente	Ep Coef	GL	t	p
Intercepto	594,40	25,74	2328	23,09	<0,001
Homens	-70,34	30,48	288	-2,31	0,0217
TDF+3TC+EFZ	57,52	26,89	2328	2,14	0,0325
Tenofovir	69,21	19,26	2328	3,59	0,0003
Efavirenz	-102,40	18,29	2328	-5,60	<0,001

- n, número de indivíduos; Ep, erro padrão; GL, graus de liberdade

Os resultados desse estudo de associação encontram-se submetidos em um artigo intitulado “Genetic and non-genetic predictors of immune recovery in HIV/AIDS patients under HAART: a naturalistic pharmacogenetic study in Barreiras, Brazil”, no International Journal of Infectious Diseases (Apêndice 5).

5. DISCUSSÃO

O manejo clínico de pacientes infectados pelo HIV tem sido alvo de muitos estudos de associação genética dada a grande variabilidade interindividual na resposta à HAART e do potencial papel atribuído a fatores genéticos. Essa potencial contribuição de marcadores genéticos na resposta à HAART foi investigada nesse trabalho por meio de uma revisão sistemática com metanálise e, em seguida, por meio de um estudo primário.

Por meio da revisão sistemática, observou-se que grande parcela da energia foi canalizada na busca por biomarcadores com capacidade preditiva para fenótipos relacionados à efeitos adversos. É provável que essa prevalência seja devido ao grande número de registros de efeitos adversos, alguns graves, e o impacto deles na saúde pública. Observou-se que, aproximadamente, 25 famílias de genes foram investigadas e que os SNPs mais comuns foram aqueles em genes relacionados às vias da farmacocinética de antirretrovirais. Isso é justificável pelo fato de a maior parte dos efeitos adversos ocorrerem devido ao aumento da biodisponibilidade dos medicamentos. Notou-se que a área ainda tem se preocupado com os efeitos adversos induzidos pelo efavirenz, em especial no sistema nervoso central, com vários estudos publicados desde 2002 e alguns mais recentes, em 2018. Também foi observado que uma atenção foi dada para os efeitos adversos induzidos pela nevirapina, entretanto, os esforços se estenderam até 2015.

No tocante à representatividade das diversas ancestralidades, nessa revisão foi observado um predomínio de africanos, europeus e asiáticos. É importante ressaltar que essa avaliação foi muito difícil e dados precisos de proporção não é possível devido à heterogeneidade nas descrições de ancestralidade. A título de exemplo, a população africana foi descrita em alguns casos como “*black*” e em outros como “*africans*”. Além disso, é importante destacar que existe o viés da autodeclaração, e como a ancestralidade pode exercer um grande impacto em muitos estudos de associação genética, esse aspecto deveria ser tratado com mais rigor. A respeito dessa grande representatividade da população africana, acredita-se que isso se deve à histórica prevalência da infecção pelo HIV. Entretanto, quanto à proporção na qual as populações europeias e asiáticas estão representadas nesses estudos, é provável

que reflita a realidade dos estudos de GWAS (*genome-wide association study*), nos quais há um forte predomínio da população europeia sendo investigada e uma tendência crescente de estudos em asiáticos, em detrimento das demais populações²³². Diversas populações, inclusive a brasileira, estão sub-representadas e é possível que isso reflita o impacto do viés da logística, o qual acontece pelo fato de a maioria dos estudos investigarem amostras alocadas onde o estudo está sendo conduzido²³². Isto é um agravante, especialmente no Brasil, onde a falta de condições favoráveis para o desenvolvimento de pesquisas, que vão desde poucos recursos até a falta de pessoal, impacta na quantidade de estudos realizados aqui e, portanto, na falta de representatividade da população brasileira no contexto global.

Um aspecto que chamou atenção foi o fato de muitos estudos terem utilizados amostras pequenas, um fator importante que pode impactar na capacidade de um estudo em detectar associações devido ao baixo poder estatístico. As metanálises consistem numa possível solução para esses problemas, por isso, este trabalho usou essa ferramenta para analisar, em conjunto, os resultados dos diferentes estudos agrupados para os fenótipos encontrados, quando possível. Quando realizadas de maneira adequada, as metanálises são capazes de estabelecer conclusões mais precisas e confiáveis. Possibilitam até mesmo identificar associações verdadeiras em meio a um volume enorme de trabalhos cujos resultados, frequentemente, revelam efeitos alélicos pequenos, ou mesmo em meio a vários trabalhos com resultados discrepantes.

Contudo, é importante reportar as dificuldades encontradas durante a execução dessa revisão sistemática com metanálise. As principais foram a falta de padronização na definição do fenótipo, a qual dificultou o agrupamento dos estudos com base no fenótipo avaliado; e o registro inadequado dos resultados, que impossibilitou a extração dos dados de diversos estudos. Tais dificuldades limitaram a inclusão de vários estudos na metanálise, inclusive impediram que alguns registros de associação presentes na revisão sistemática fossem inclusos. Vieses como esses podem impactar diretamente na qualidade de uma metanálise, pois este é reflexo da qualidade de seus estudos primários²³³. A análise desses obstáculos, inclusive de outros que serão discutidos a seguir, pode justificar o fato de algumas associações não terem sido observadas e auxilia na explicação de inconsistências entre os desfechos de alguns estudos. Diante disso, dentre todos os fenótipos presentes nessa

revisão, a metanálise foi realizada para: (1) reação de hipersensibilidade ao abacavir; (2) efeitos adversos no sistema nervoso central ao efavirenz; (3) disfunção tubular renal induzida pelo tenofovir; (4) reação de hipersensibilidade à nevirapina e (5) hiperbilirrubinemia induzida pelo atazanavir.

A metanálise para a reação de hipersensibilidade ao abacavir corroborou o que já estava bem estabelecido na literatura a respeito da associação entre a presença do alelo HLA-B*5701 e o aumento na chance de manifestar a reação. É interessante reforçar que o primeiro estudo retrospectivo registrou que a presença do alelo HLA-B*5701 estava associada a um aumento de, aproximadamente, 142 vezes na chance de expressar o fenótipo⁸³. Este achado demandou estudos de replicação em outras etnias, e o consenso obtido em 2007 levou à recomendação para a triagem do alelo HLA-B*5701 em todos os pacientes elegíveis para o abacavir⁴⁸. Este teste é, atualmente, um dos melhores exemplos da integração da farmacogenética na prática clínica²³⁴.

As metanálises para a disfunção tubular renal induzida pelo tenofovir indicaram que o SNP ABCC4 rs1751034 está associado a um aumento na chance de manifestar o fenótipo, concordando com outros estudos que sugerem que variantes no gene ABCC4 (localizado no cromossomo 13q32.1; OMIM 605250), também estejam associadas^{158,235}. Esse gene codifica para proteínas transportadoras responsáveis pelo efluxo de tenofovir a partir das células tubulares proximais, e a hipótese é que os polimorfismos diminuem a atividade desses transportadores, levando ao acúmulo de tenofovir no interior das células e, portanto, à toxicidade²³⁵. A literatura também registra associações entre as variantes rs2273697¹⁵² e rs717620^{153,87} no gene ABCC2 (localizado no cromossomo 10q24.2; OMIM 601107); a variante rs2273697 estava presente em 77% dos indivíduos que expressavam esse fenótipo, contra apenas 35% do grupo controle (O.R.= 6,11; I.C.= 1,20 - 31,15)¹⁵². Contudo, tais proposições não encontram respaldo neste trabalho.

Na atual metanálise foi confirmada a associação entre o SNP CYP2B6 rs3745274 e os efeitos adversos no sistema nervoso central provocados pelo uso de efavirenz, reforçando a recente publicação do *Clinical Pharmacogenetic Implementation Consortium*⁸⁹ que recomenda o uso de efavirenz baseado na genotipagem do alelo. Observou-se associação entre o genótipo TT e efeitos adversos

no sistema nervoso central. O fato do genótipo TT estar associado à redução da expressão de CYP2B6 quando comparado com GG e GT¹³² pode justificar esse achado, ao resultar em altas concentrações plasmáticas do efavirenz¹³³.

A análise em conjunto de estudos que investigaram a associação entre os alelos HLA-Cw*0401^{93-95,200} e HLA-DRB*01^{94,95,97,189} e a reação de hipersensibilidade à nevirapina, consistiu em uma evidência de associação entre esses alelos e uma maior chance de expressar o fenótipo. Os desfechos dos estudos incluídos foram consistentemente reproduzidos, e, inclusive, contemplando diversas populações. Além disso, é importante ressaltar que no estudo conduzido por Vitezica e cols.¹⁸⁹, o alelo HLA-DRB*01 esteve associado a um aumento de 69 vezes na chance de expressar esse fenótipo. Sugere-se que a nevirapina desencadeia uma resposta imune mediada por células CD8⁺ e CD4⁺ na presença de alelos de classe I e II do complexo maior de histocompatibilidade, respectivamente²³⁶.

Quanto à hiperbilirrubinemia induzida pelo atazanavir a metanálise indicou associação com o alelo UGT1A1*28, desfecho consistentemente presente em todos os estudos incluídos^{102,104,212,214,216}. Um estudo encontrou que entre os pacientes que usavam atazanavir e apresentaram hiperbilirrubinemia grave, 80% eram homozigotos para o alelo *28 e 18% homozigotos para o selvagem ($p=0.01$)¹⁰². É importante considerar que, embora não seja prejudicial à saúde, a hiperbilirrubinemia pode levar à descontinuação da droga devido à icterícia¹⁰⁰.

No geral, a despeito do grande número de polimorfismos investigados nos últimos anos, de tantos fenótipos de interesse clínico e do sucesso alcançado por meio dos estudos de associação para a reação de hipersensibilidade ao abacavir, não foram encontrados outros indícios na literatura indicando a implementação na prática clínica de algum outro teste farmacogenético, à exceção da recente recomendação para a prescrição de efavirenz com base em genótipos CYP2B6⁸⁹. Um aspecto que potencialmente contribui para isso é a grande heterogeneidade entre os estudos na definição dos fenótipos analisados. A falta de critérios específicos e padronizados para a definição de um fenótipo gera um impacto negativo à medida que dificulta a análise em conjunto dos diversos estudos, relativos a um mesmo fenótipo. Além disso, a designação correta de um fenótipo é imprescindível para que todos os pressupostos

e métodos envolvidos em um estudo de associação genética conduzam à conclusão correta.

Outro aspecto que, possivelmente, contribui para a ausência de uma eventual integração com a prática médica para determinados fenótipos seja a falta de reprodutibilidade do desenho do estudo. Além disso, ao contrário da metanálise para a reação de hipersensibilidade ao abacavir, na vasta maioria dos fenótipos analisados constatou-se uma baixa representatividade para as diversas populações. A representação mais abrangente das populações nos estudos de associação genética é crucial para avaliar a relevância mais ampla de um achado, uma vez que é possível que inúmeras associações em uma população bem representada sejam replicadas em outros grupos^{232,237}. Ou seja, com a baixa representatividade perde-se a oportunidade de contemplar outras populações e de descobrir novas associações.

Para promover avanços genuínos e a eventual integração com a prática médica e a saúde pública, é crucial que o conjunto de evidências sobre as associações genéticas faça sentido²³⁸. Com isso, é obvio que as inconsistências entre os desfechos de estudos, evidentes em algumas metanálises desse estudo, também sejam um dos entraves para esse avanço. Um dos fatores que podem explicar isso é a ancestralidade. No caso da hipersensibilidade ao abacavir, onde houve consenso entre os desfechos de todos os estudos envolvidos, é notório que a ancestralidade não impacta no efeito do alelo. Mas é possível que alguns estudos de replicação resultem em desfechos diferentes se a população estudada for diferente do estudo original. Isso pode ocorrer quando o polimorfismo testado está em desequilíbrio de ligação com a variante causal. O desequilíbrio de ligação é uma associação não aleatória entre alelos, e esta ligação pode produzir uma associação significativa entre o marcador e um determinado fenótipo. E, uma vez que os padrões de desequilíbrio de ligação variam entre populações diferentes, estas podem apresentar variabilidade na frequência alélica entre si e, assim, a associação pode ser verdadeira somente para alguns grupos populacionais²³⁹. Deste modo, a existência de desequilíbrio de ligação pode explicar as inconsistências encontradas entre estudos primários. Embora essa explicação seja plausível, é preciso ressaltar que certas discrepâncias podem não ser decorrentes de um efeito específico de população e sim falsos positivos ou falsos negativos, o que causa um grande desconforto.

Nesse sentido, é importante frisar que nos estudos de associação genética a estrutura genética das populações pode também ser um fator confundidor²³⁸. Observou-se, em alguns estudos, uma falta de critérios quanto à descrição das populações estudadas a respeito de suas ancestralidades, inclusive foram encontrados estudos que nem ao menos descreveram a ancestralidade da população. Isso é alarmante, em especial nos estudos do tipo caso e controle, pois, se os indivíduos do grupo caso pertencerem a uma população diferente da amostrada no grupo controle, pode acontecer a estratificação populacional. Neste caso, a frequência do alelo estudado será diferente entre o grupo caso e controle não devido à influência do fenótipo, mas sim devido ao efeito da população. E, se a variante estiver representada em maior ou menor quantidade no grupo caso, a estimação do tamanho de efeito será comprometida, levando ao aumento de falsos positivos; ou seja, será observada associação quando de fato ela pode não existir²³⁹. Como os estudos de associação, geralmente, abordam efeitos moderados ou pequenos, um viés decorrente da estratificação populacional é importante²³⁸ e isso pode refletir na literatura contraditória para muitos estudos de associação gene-doença.

Finalmente, outro aspecto observado e relevante para o contexto acima foi a respeito do tamanho das amostras empregadas nos estudos. Alguns estudos analisados utilizaram amostras pequenas e isso pode representar um fator confundidor, podendo levar à perda de poder para detectar uma associação verdadeira em estudos de replicação. O impacto disso pode ser ainda maior, e até mesmo um fator limitante, ao considerar que alguns alelos são raros em determinadas populações e que o percentual de contribuição da maioria dos genes que são associados a um fenótipo complexo é frequentemente baixo. Sendo assim, detectar esse tipo de associação requer uma amostra grande²³⁹, caso contrário, inclusive estudos de replicação, podem ter desfechos divergentes e equivocados, como falsos negativos.

Diante do exposto, a expectativa é que as evidências encontradas nesse estudo secundário contribuam com o conhecimento acerca dos mecanismos genéticos envolvidos na resposta à HAART e com o progresso da medicina de precisão aplicada ao tratamento da infecção pelo HIV. Mas a área da farmacogenética de antirretrovirais e a presente metanálise canalizaram seus esforços para fenótipos relacionados a efeitos adversos. Embora relevantes, é importante ressaltar que o sucesso da HAART

também é frequentemente comprometido pela sua incapacidade de reverter por completo a imunossupressão, fator determinante na susceptibilidade dos pacientes a AIDS; e que poucos estudos de associação genética se dedicaram à essa temática. Por isso, diante da relevância dessa temática, nesse trabalho o estudo primário se dedicou à análise da dinâmica temporal da contagem de CD4⁺ em pacientes que fazem uso de antirretrovirais, com o intuito de compreender o processo de recuperação imune e fatores relacionados.

Inicialmente, no que tange à análise do perfil clínico dos pacientes envolvidos nesse estudo, é importante destacar que, no âmbito da imunologia da infecção pelo HIV, é notória a falta de consenso no que diz respeito aos critérios para definir a recuperação imune ideal ou a falha imunológica. Os percentuais de pacientes com falha imunológica ou cujo sistema imune se recuperou após a HAART relatados na literatura também variam substancialmente entre os estudos^{62,106–108}. Essas discrepâncias podem ser explicadas pelos diferentes critérios utilizados na definição do fenótipo, especialmente aqueles relacionados aos pontos de corte de valores de CD4⁺ e o intervalo de tempo utilizado para estabelecer esta resposta. Por isso, houve cautela em confrontar os achados desse estudo com os da literatura. Além disso, essa falta de padronização desses critérios e o desentendimento entre os estudos na definição do fenótipo contribuíram fortemente para que não fosse conduzido um estudo do tipo caso-controle, dicotomizando, por exemplo, a amostra em respondedores e não respondedores imunológicos.

Este estudo contou com uma amostra de 291 indivíduos infectados pelo HIV, sendo 57% homens e 43% mulheres, com uma média de 6 anos de tratamento. No início do estudo, a maioria dos pacientes fazia uso de efavirenz, o qual era parte do esquema de primeira linha e norteou a escolha de alguns SNPs. Entretanto, em 2017, essa droga foi substituída pelo dolutegravir, mas, ainda assim, muitos pacientes permaneceram usando o efavirenz. Embora introduzido ao esquema de primeira linha desde 2017, constatou-se que a literatura apresenta poucos estudos de associação farmacogenética com o dolutegravir.

Com base nos valores do primeiro exame disponível (ao diagnóstico), realizou-se um levantamento da proporção de pacientes que se apresentou aos cuidados com a contagem de CD4⁺ inferior a 200 e 350 células/mm³. Constatamos que, aproximadamente, 53 e 34% dos pacientes se enquadram no perfil de apresentadores

tardios ($CD4^+ \leq 350$ células/mm³) e apresentadores com doença avançada do HIV ($CD4^+ \leq 200$ células/mm³), respectivamente, classificados conforme as definições propostas pelo “European Later Presenter Consensus Working group”²⁴⁰. Esses resultados foram similares a outros estudos conduzidos no Brasil²⁴¹, na Europa¹⁴² e em outros países^{109,242–244}, onde mais de 50% de todas as PVHA são diagnosticadas tardiamente após a infecção. Uma análise global que incluiu quase 1 milhão de PVHA encontrou que a média de $CD4^+$ antes da HAART estava abaixo de 350 células/mm³²⁴⁵. No ranking das Unidades federativas do Brasil, 100% apresentaram a média de $CD4^+$ ao diagnóstico, nos últimos cinco anos, abaixo de 300 células/mm³⁹. Com relação à carga viral, foi constatado que 59% da população estudada se apresentou ao ambulatório com valores acima de 10.000 cópias/mL, o qual indica um alto potencial para transmissão do HIV.

Observar e considerar a proporção de PVHA que se apresentam tardiamente é válido, uma vez que a magnitude da recuperação de $CD4^+$ está vinculada à sua contagem no início da TARV^{41,59,62,107,113,246} e permite identificar pessoas que exigirão um acompanhamento mais próximo devido à maior susceptibilidade à falha imunológica, com o desenvolvimento de infecções oportunistas e comorbidades não relacionadas a AIDS^{124,240,247}. Por isso, o *Department of Health and Human Services Guidelines* recomenda o início imediato da HAART após o diagnóstico, ao considerar que o adiamento da terapia até o declínio da contagem de $CD4^+$ coloca os pacientes em risco dessas condições supracitadas⁴⁸. Diante disso, considera-se os registros acima mencionados e as taxas encontradas nesse estudo significativamente elevados, sobretudo no Brasil, onde um programa bem estabelecido e reconhecido de saúde pública para HIV/AIDS existe há mais de 30 anos.

O tempo médio que os pacientes desse estudo estiveram sob tratamento até o final da coleta de dados foi de, aproximadamente, 6 anos e os achados laboratoriais expressam que a maioria deles obteve boa evolução clínica. A média da contagem de $CD4^+$ passou de 289 para 640 células/mm³ (uma variação média de +351 células/mm³ da basal para a última contagem), com 67% dos pacientes alcançando um valor maior que 500 células/mm³. O número de pacientes com carga viral indetectável (<40 cópias/ml) passou de 0,7 para 88% após esse período. Esse desfecho foi melhor do que o registrado por outro estudo conduzido no Brasil, no qual a média de $CD4^+$ durante a HAART foi de 485 células/mm³²⁴⁸. São achados relevantes, uma vez que

alcançar a contagem de CD4⁺ acima de 500 células/mm³ possibilita à PVHA alcançar as mesmas taxas de mortalidade que a população em geral^{57,249–251}. Por essa razão, de acordo com as recentes diretrizes do Departamento de Saúde e Serviços Humanos, um dos objetivos da terapia é aumentar a contagem de células CD4⁺ para valores acima de 500 células/mm³⁴⁸. Porém, observou-se que uma parcela significativa de indivíduos claramente não alcançou esse objetivo.

Apesar de submetidos à, aproximadamente, 6 anos de tratamento, ao final desse período foi observado que uma proporção de 33% entre todos os pacientes estava com a CD4⁺ abaixo de 500 células/mm³. Embora menos expressivo, esse resultado corrobora análises prospectiva⁶² e retrospectiva¹⁰⁸ na África, as quais relataram que limiares de contagem de células CD4⁺ superiores a 500 células/mm³ não foram atingidos por 57 e 63% dos pacientes, respectivamente, após aproximadamente 6 anos de terapia. Ao explorar a relação entre a contagem basal de CD4⁺ e magnitude da recuperação imune, esse estudo observou-se que entre os indivíduos cujas CD4⁺ basais eram ≤ 200 , 350 e 500 células/mm³, 58, 45 e 38%, respectivamente, não recuperaram valores acima de 500 células/mm³. Esse resultado é coerente com outros estudos, nos quais indivíduos que iniciaram a HAART com a CD4⁺ < 350 e < 500 ²⁴⁶ células/mm³ não atingiram a contagem de 500 células/mm³ após anos de tratamento^{59,61,252}.

Diante do exposto, é válido considerar que as estratégias mais eficazes para reduzir tanto a transmissão do vírus quanto o risco de morbidade/mortalidade são diagnosticar e tratar todas as PVHA o mais rápido possível após a soroconversão^{48,253}. Entretanto, apesar dos avanços no tratamento e das políticas públicas, os dados supracitados e o fato de que ainda milhões de PVHA não estão diagnosticadas ou tratadas⁶, são indicativos do impacto subótimo das atividades de implementação de tais estratégias. Somados ao fato de que 1/3 da população desse ambulatório vivia com uma condição em que sua expectativa de vida estava diminuída no momento da coleta, são também indicativos de que o acompanhamento de PVHA não é trivial. Como não há intervenções comprovadas para melhorar a recuperação de CD4⁺ em pacientes sob HAART já supressiva⁴⁸, os esforços deveriam focar não apenas no enfrentamento da viremia, mas no início da HAART antes que a CD4⁺ decline, para que a recuperação imune seja possível. É pertinente ressaltar que estudos recentes demonstraram que pacientes que iniciaram a HAART com CD4⁺ > 500 células/mm³

apresentaram uma significativa redução do risco de morbidade e mortalidade^{57,58}. Tais benefícios não se restringiriam à saúde do paciente, também permitiriam uma redução a longo prazo dos custos relacionados à gestão da AIDS e suas comorbidades^{48,254} e contribuiriam para alcançar a tão almejada meta de fim da epidemia em 2030⁶.

A literatura registra diversos estudos realizados para elucidar o processo de recuperação imune durante a HAART; entretanto, a maioria focou sobre a variação média de CD4⁺ em um curto período ou até mesmo baseou-se em um único valor num momento específico do tratamento. Acredita-se que os critérios para o estabelecimento de pontos de corte no valor de CD4⁺ possui uma relevância específica para cada estudo, e que estes contribuíram com informações importantes por meio dessa abordagem.

Todavia, um dos pontos fortes do presente estudo foi a opção de explorar todas as contagens durante todo o período de tratamento, uma vez que não encontrou justificativas para o uso de pontos de corte. Nesse sentido, propositalmente adotou-se a abordagem de considerar todas as contagens de CD4⁺, independentemente do momento de supressão da carga viral, para uma melhor noção da magnitude de efeito do tratamento sobre a recuperação dessas células. Isso porque esse processo de recuperação se inicia antes mesmo do paciente ficar com carga viral indetectável. Além disso, ao se tratar de um estudo retrospectivo, é importante também ponderar que os limites de detecção do RNA viral variam com o avanço da tecnologia e esse estudo registrou dados de 1997 a 2017; e que não há consenso na literatura sobre os limiares de carga viral para definir a supressão viral. Assim, foi implementado o modelo linear de efeito aleatório, no qual os marcadores laboratoriais foram tratados por meio de uma abordagem mais completa com o intuito de retratar a realidade do ambulatório e obter uma visão mais ampla do processo de recuperação imune durante a HAART e os fatores associados.

Nossa análise da dinâmica de CD4⁺ no tempo de tratamento revelou que a taxa de recuperação de CD4⁺ foi mais rápida no primeiro ano de HAART, seguida por aumentos graduais até atingir um patamar no quarto ano de tratamento. Nossos resultados concordam amplamente com outros estudos^{59,107,252,255}. Um estudo sobre o aumento anual da contagem de CD4⁺ durante a HAART revelou que o platô ao quarto ano de supressão acontece em todos os estratos de CD4⁺ basal (≤ 200 , 201-350 e ≥ 350 células/mm³); ou seja, independentemente da CD4⁺ basal, os valores vão

umentar até, aproximadamente, o quarto ano de tratamento⁵⁹. Outro estudo contabilizou que 25% dos pacientes que iniciaram o tratamento com $CD4^+ \leq 200$ células/ mm^3 , atingiram o platô com uma contagem menor que 500 células/ mm^3 ¹⁰⁷. Estagnar a contagem ao quarto ano não é um problema para aqueles que já alcançaram valores maiores que 500 células/ mm^3 , mas um platô precoce pode impedir que pessoas que começaram a terapia com a contagem ≤ 200 células/ mm^3 alcancem a reconstituição imunológica completa. Assim, uma vez que a média de duração da HAART do presente estudo ultrapassou 6 anos, é possível inferir que a maioria já alcançou o platô. Com isso, é possível que muitos entre os 58% dos pacientes imunossuprimidos ao início da terapia e que ainda não haviam alcançado 500 células/ mm^3 ao final do estudo, não serão capazes de alcançar uma resposta imune adequada, mesmo que a terapia efetiva dure 10 anos^{59,107}.

Esses resultados estão alinhados com a literatura que afirma a necessidade de o sistema imunológico estar preservado, pelo menos parcialmente, para que a reconstituição imunológica seja eficaz. É possível que o longo período de infecção sem tratamento tenha promovido a exaustão do timo^{113,120}, impossibilitando a reconstituição plena do sistema imune. Por isso, esse estudo reforça que o diagnóstico precoce e início imediato da HAART são imprescindíveis, pois, se alcançar valores acima de 500 células/ mm^3 melhora a qualidade de vida e faz com que a taxa de mortalidade da PVHA se equipare à da população em geral, essa meta deveria ser almejada para todos os pacientes.

Esse estudo também analisou a contribuição da carga viral sobre a dinâmica de $CD4^+$ ao longo do tempo, uma vez que esse é um dos principais fatores associados à deterioração acelerada do sistema imune em pacientes HIV em tratamento. Observou-se que o acréscimo de 1.000 cópias virais estava associado a uma diminuição significativa de 300 células/ mm^3 na média de $CD4^+$. Dito isso, pode-se inferir que o sucesso alcançado com a supressão viral (88% com carga viral indetectável) responde, em parte, pelo processo de recuperação imune observado nesse estudo. Entretanto, embora uma parcela significativa estivesse com a carga viral indetectável ao final da coleta de dados, vale reforçar que 33% do total apresentou uma contagem de $CD4^+$ abaixo de 500 células/ mm^3 , no mesmo período. Esse dado é preocupante e expressa que o vírus não responde sozinho pela falha imunológica, como já bem estabelecido na literatura. Por isso, outras variáveis também foram investigadas.

Investigou-se a associação entre sexo e a dinâmica de CD4⁺ ao longo do tempo. A análise univariada demonstrou uma tendência à associação ($p=0,0501$), a qual se confirmou na análise multivariada, na qual os homens apresentaram uma média de CD4⁺ significativamente menor do que a média das mulheres. Este resultado indica a necessidade de uma atenção especial aos pacientes homens e encontra respaldo em outros estudos nos quais o sexo masculino também esteve associado com a falha imunológica^{61,62,255-257}. Apesar desta associação ainda não ser muito bem compreendida, estudos propõem que fatores comportamentais, como a tendência do homem atrasar sua apresentação para o tratamento²⁵⁸, a qual pode comprometer sua função tímica²⁵⁹, podem explicar as diferenças de gênero. Entretanto, cabe ressaltar que não há consenso, pois outros estudos não corroboram essa associação^{91,246,260}.

A relação inversa entre idade e reconstituição imune tem sido enfatizada por vários estudos. Levou-se em considerações esse quesito dado o número crescente de pacientes iniciando o tratamento antirretroviral em idade avançada ou atingindo idade avançada durante o tratamento, devido ao aumento da expectativa de vida²⁶¹. Os resultados da estatística univariada e do primeiro modelo da multivariada estão em conformidade com outros achados da literatura que observaram uma relação entre o aumento da idade ao diagnóstico e o menor incremento de CD4⁺ durante a HAART^{59,62,109,255,257,262,263}. Observou-se que o incremento de dez anos na idade ao diagnóstico foi consistentemente identificado como fator de risco para a falha imune, associando-se à uma queda de, aproximadamente, 32 células/mm³ na média CD4⁺ ao longo do tratamento. Assim, a idade pode ser um preditor de um ganho reduzido de CD4⁺ durante a terapia, e é provável que a função diminuída do timo com o avançar da idade possa ser, em parte, responsável por isso^{41,113,264}.

Outra importante contribuição deste estudo é a indicação de uma associação entre a reconstituição imune e esquemas terapêuticos e drogas. De acordo com a literatura, o esquema terapêutico utilizado na HAART pode impactar na recuperação imune, principalmente pelo desenvolvimento de toxicidade medicamentosa ou resistência⁶³. A análise multivariada indicou associação entre o esquema TDF+3TC+EFZ, preconizado na época, e o aumento significativo na média de CD4⁺ ao longo do tempo. A análise para o tenofovir revelou o mesmo resultado, indicando que a escolha de mantê-lo no esquema atual foi assertiva. Notou-se que a maioria dos pacientes que fez uso do EFZ, o fez fora do esquema de primeira linha; ou seja,

são pacientes que não responderam ao esquema inicial e provavelmente apresentaram dificuldades para controlar a viremia ou outras complicações relacionadas à infecção pelo HIV. É também possível que devido à sua ampla utilização e longo período no mercado exista a influência de mecanismos de resistência viral. Sendo assim, esses aspectos podem justificar o fato do efavirenz ter sido associado a uma diminuição na contagem de CD4⁺.

A respeito dos inibidores de protease, a literatura apresenta que os mesmos estão associados à proteção ao risco de desenvolver falha imunológica²⁶⁵. O atual estudo corrobora esse dado, pois foi observado um aumento de, aproximadamente, 85 células/mm³ CD4⁺ em média durante o uso de inibidores de protease, sugerindo que essa classe favorece o processo de recuperação imune. Entretanto, é preciso ressaltar que qualquer atribuição feita a uma droga específica em indivíduos sob HAART pode ser imprecisa, uma vez que estão expostos à uma terapia com múltiplas drogas.

A literatura apresenta evidências de que variantes genéticas sejam uma base molecular potencial para diferenças interindividuais no ritmo da recuperação de células CD4⁺, que é vista após o início do tratamento²⁶⁶. Alterações no nível de expressão dos genes que codificam para o TNF- α , CYP2B6 e glicoproteína-P parecem exercer impacto sobre a resposta imunológica à HAART.

Com base em evidências que sugerem que o SNP CYP2B6 516G>T explica, em parte, as variações interindividuais na resposta imunológica à HAART, o presente estudo investigou essa possível associação. As frequências do alelo T (24,9%) e do genótipo TT (11,6%) foram semelhantes a uma análise realizada por Queiroz e cols.¹⁴¹, em uma população da região Norte do Brasil (36 e 11,9%, respectivamente). Em outros estudos, a frequência desse alelo variou de 26%^{134,267} a 34,2%¹⁶⁸. Queiroz e cols.¹⁴¹ encontraram que portadores do genótipo TT apresentaram uma menor contagem de CD4⁺ quando comparado aos demais genótipos. Paradoxalmente, outros estudos encontraram associação entre o genótipo TT e uma melhor recuperação imune^{112,129}, e que a presença do alelo G estava associada a um aumento de 70% no risco de falha imunológica¹¹². Contudo, o resultado do presente estudo não demonstrou associação da variante com o processo de recuperação imune, confirmando resultados de outras análises^{183,224}.

Na análise dessas divergências, é importante reforçar que os estudos de associação genética têm que considerar as origens das populações estudadas, pois podem apresentar variabilidade na frequência alélica entre si e, assim, justificar as inconsistências observadas²³⁹. Contudo, como esperado, no estudo conduzido por Queiroz e cols.¹⁴¹ a frequência do genótipo TT foi praticamente a mesma do presente estudo, pois ambos analisaram indivíduos de mesma nacionalidade. Mas, enquanto praticamente todos os envolvidos nele faziam uso do efavirenz, aproximadamente 30% da amostra aqui estudada não fazia uso. É provável que isso explique, em parte, o fato de não termos encontrado associação, uma vez que a associação entre o genótipo TT e a falha imune é decorrente da baixa expressão da CYP2B6 em portadores desse genótipo, levando à altas concentrações plasmáticas de efavirenz, podendo provocar efeitos colaterais e baixa adesão à terapia^{98,141}.

O interesse em investigar a contribuição do SNP ABCB1 3435C>T deve-se ao fato de que o genótipo TT mostrou-se associado à uma melhor recuperação imune durante a HAART quando comparado ao CC e CT⁹¹. Embora silenciosa, a mutação pode influenciar na estabilidade do RNA mensageiro. Isso pode explicar o fato do genótipo TT ser associado a uma redução significativa da expressão da glicoproteína-P duodenal em comparação com o genótipo CC¹⁴⁰, e, portanto, a uma menor capacidade de efluxo de drogas no intestino. Isso permitiria maior biodisponibilidade de medicamentos antirretrovirais, logo, uma melhor resposta, com o aumento na contagem de CD4⁺²²⁴. Para Fellay e cols.⁹¹, é possível que o benefício imunológico observado em indivíduos com genótipo TT, os quais apresentaram maior contagem de CD4⁺ do que indivíduos CC e CT, seja devido à baixa expressão de glicoproteína-P em células suscetíveis à infecção pelo HIV-1 e em linfócitos infectados^{52,131}, a qual permite uma maior penetração de antirretrovirais. Por isso, os autores sugerem que variantes alélicas do ABCB1 são uma base molecular potencial para as diferenças interindividuais no ritmo de recuperação das células CD4⁺ durante o tratamento.

Entretanto, os nossos dados contrastam com os dados supracitados e confirmam outros estudos^{224,268,269} que não demonstraram associação entre o SNP ABCB1 3435C>T e o desfecho em questão. No presente estudo as frequências dos genótipos CC, CT e TT foram de, aproximadamente, 37, 45 e 16%, respectivamente. Distribuição diferente da encontrada em estudos avaliando indivíduos brancos, com 25% CC, 50% CT e 25% TT⁹¹ e negros africanos onde a frequência do genótipo CC

é de 83%²⁷⁰. Essas variações podem responder, em parte, pelos diferentes padrões de respostas ao tratamento antirretroviral em populações humanas.

O aspecto genético relacionado ao processo de recuperação imune supracitado frequentemente é relatado como um efeito secundário à alteração da biodisponibilidade de medicamentos antirretrovirais; consistindo em uma abordagem farmacogenética. Mas a área da imunogenética apresenta estudos que investigam o impacto que certos SNPs podem exercer sobre o curso da infecção. Estudos investigam a contribuição de variantes em genes que codificam para citocinas^{114,115,256,271,272}, uma vez que elevados níveis de TNF- α promovem alto nível de ativação imune^{125,273}, induzindo a apoptose em células CD4⁺^{118,272,274-276}. Aukrust e cols.¹²⁵, encontraram que os níveis de TNF- α estavam mais elevados em indivíduos HIV com baixa recuperação imune, quando comparado àqueles com boa recuperação. Registros apontam que o SNP TNF- α -308G>A está associado à alta atividade transcricional, sugerindo a associação do alelo A com a progressão de diversas doenças¹²⁶. Por isso, esse trabalho também executou um estudo de associação imunogenética para os SNPs -308G>A e -238G>A. Embora os estudos mencionados acima sugeriram que o TNF- α provavelmente seja um mediador da perda de CD4⁺, inclusive em pacientes infectados pelo HIV, essa análise não demonstrou associação, estando de acordo com outros registros^{277,278}. É possível que a frequência extremamente baixa do alelo A, em ambos os SNPs, nestes registros e no presente estudo tenha afetado o poder para detectar alguma diferença significativa entre os genótipos.

Esse estudo teve pontos fortes importantes. Primeiro, o tempo de acompanhamento foi de, aproximadamente, 6 anos, período suficiente para analisar o processo de recuperação imunológica. Segundo, as orientações sobre a frequência de monitoramento da contagem de CD4⁺ mudaram substancialmente na última década; a falta de regularidade no comparecimento às consultas e as diferenças na duração do acompanhamento, impactaram no número de valores de CD4⁺ entre os indivíduos. Contudo, o modelo linear de efeito aleatório implementado é robusto e flexível para levar em consideração essas condições, e inclusive para considerar a dependência no tempo entre as observações.

6. LIMITAÇÕES

Algumas limitações desse estudo precisam ser levadas em conta. Em primeiro lugar, o registro inadequado dos resultados de diversos estudos impossibilitou a extração dos dados para a revisão sistemática. No tocante ao estudo primário, algumas informações estavam ausentes nos prontuários e algumas variáveis importantes não puderam ser analisadas; foram limitações impostas pela natureza retrospectiva do estudo, por isso um desenho prospectivo seria mais enriquecedor.

Em segundo lugar, o tamanho da amostra do estudo primário pode não ter sido suficiente para alcançar significância estatística para as variantes rs1800629 e rs361525 do gene TNF- α , devido a frequência muito baixa das variantes na população. Terceiro, a designação da raça foi feita com base na autodeclaração. Quarto, a falta de critérios específicos e padronizados para a definição dos fenótipos analisados pelos diferentes estudos referenciados foi um problema tanto para a metanálise como para o estudo primário. Por último, hesitação em atribuir algum desfecho a uma droga específica, pois os pacientes estão expostos à uma terapia com múltiplas drogas.

7. PERSPECTIVAS

- Determinar o efeito da CD4⁺ basal sobre o tempo decorrido até a recuperação imunológica;
- Repetir as análises apenas com pacientes com carga viral suprimida;
- Fazer a análise inferencial com a variável CD4⁺ basal, utilizando o modelo linear de efeito aleatório.

8. CONCLUSÕES

No âmbito geral, considera-se que os problemas observados e enfrentados durante a execução desse estudo têm dificultado o avanço da medicina de precisão. O desenho do estudo, a definição do fenótipo, a seleção dos polimorfismos, o registro e a interpretação dos resultados, as diferenças étnicas, são variáveis que contribuíram para as inconsistências observadas entre os desfechos da literatura e do presente estudo. Apesar dos problemas supracitados, constatou-se que a área da farmacogenética de antirretrovirais fornece evidências que podem contribuir para a personalização terapêutica baseada na testagem dos alelos rs3745274 no gene CYP2B6, rs1751034 no gene ABCC4, HLA-Cw*0401 e UGT1A1*28, para a prescrição apropriada do efavirenz, tenofovir, nevirapina e atazanavir, respectivamente, evitando potencialmente os efeitos adversos específicos.

Dada a importância de marcadores genéticos como ferramentas preditivas no contexto da HAART e considerando a falta de consenso na literatura, são necessários estudos de replicação, com maior tamanho amostral e de natureza prospectiva. É essencial que continuem os esforços para aumentar a representação de diversas populações na área genômica para que o acesso à medicina de precisão não seja desigual.

A despeito dos avanços no cuidado da PVHA, a morbidade e mortalidade destes continuam sendo maiores do que da população geral. Fatores como apresentação tardia aos cuidados, efeitos adversos, baixa adesão ao tratamento e a incompleta recuperação do sistema imune observados nesse estudo e registrados na literatura contribuem para isso. Este estudo corrobora a existência de benefícios para o início imediato da HAART após o diagnóstico, uma vez que alcançar valores de 500 células/mm³ de CD4 exerce impacto significativo sobre a qualidade e a expectativa de vida. Mas é imprescindível que estratégias mais eficazes sejam implementadas, pois o diagnóstico tardio continua a minar o impacto do tratamento.

9. REFERÊNCIAS

1. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Pneumocystis pneumonia—Los Angeles. 1981. MMWR. Morbidity and mortality weekly report, 45(34), 729 (1996).
2. Current Trends—Prevention of Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS)—Report of Inter-Agency Recommendations. Journal of Histotechnology, 6(4), 193-194 (1983).
3. De Cock, K. M., Jaffe, H. W., & Curran, J. W. Reflections on 30 years of AIDS. Emerging infectious diseases, 17(6), 1044 (2011).
4. Rey, B. S. F. C. J. et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Science, 220, 868-871 (1983).
5. Gallo, R. C. *et al.* Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. Science, 224(4648), 500-503 (1984).
6. Un aids. The aids epidemic can be ended by 2030 with your help (2016).
7. Un aids. Global hiv statistics (2019).
8. Un aids. UNAIDS fact sheet - Latest statistics on the status of the AIDS epidemic.
9. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico HIV AIDS. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, AIDS e Hepatite Virais. (2019).
10. Fellay, J. et al. Prevalence of adverse events associated with potent antiretroviral treatment: Swiss HIV Cohort Study. The Lancet, 358(9290), 1322-1327 (2001).
11. Osler, M. et al. The continuing burden of advanced HIV disease over 10 years of increasing antiretroviral therapy coverage in South Africa. Clinical Infectious Diseases, 66(suppl_2), S118-S125. (2018).
12. Connor, R.I. et al. Change in coreceptor use correlates with disease progression in HIV-1–infected individuals. The Journal of experimental medicine, 185(4), 621-628 (1997).
13. Zhu, P. et al. Distribution and three-dimensional structure of AIDS virus envelope spikes. Nature, 441(7095), 847-852 (2006).

14. Liu, J. et al. Molecular architecture of native HIV-1 gp120 trimers. *Nature*, 455(7209), 109-113 (2008).
15. Watts, J.M. et al. Architecture and secondary structure of an entire HIV-1 RNA genome. *Nature*, 460(7256), 711-716 (2009).
16. Abbas, A.K.; Lichtman A.H. & Pillal, S. *Cellular and Molecular Immunology*. 9th editio ed. Philadephia: Elsevier (2018).
17. Foley, B.T. et al. HIV sequence compendium 2018 (No. LA-UR-18-25673). Los Alamos National Lab. (LANL), Los Alamos, NM (United States) (2018).
18. Xiao, Q., Guo, D., & Chen, S. Application of CRISPR/Cas9-based gene editing in HIV-1/AIDS therapy. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 9, 69 (2019).
19. Dalglish, A.G. et al. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature*, 312(5996), 763-767 (1984).
20. Klatzmann, D. et al. T-lymphocyte T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV. *Nature*, 312(5996), 767-768 (1984).
21. Doranz, B.J. et al. A dual-tropic primary HIV-1 isolate that uses fusin and the β -chemokine receptors CKR-5, CKR-3, and CKR-2b as fusion cofactors. *Cell*, 85(7), 1149-1158 (1996).
22. Dragic, T. et al. HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature*, 381(6584), 667-673 (1996).
23. Choe, H. et al. The β -chemokine receptors CCR3 and CCR5 facilitate infection by primary HIV-1 isolates. *Cell*, 85(7), 1135-1148 (1996).
24. Deng, H. et al. Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature*, 381(6584), 661-666 (1996).
25. Feng, Y. et al. HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science*, 272(5263), 872-877 (1996).
26. 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).
27. Cooper, A. et al. HIV-1 causes CD4 cell death through DNA-dependent protein kinase during viral integration. *Nature*, 498(7454), 376-379 (2013).

28. Cummins, N.W., & Badley, A.D. Mechanisms of HIV-associated lymphocyte apoptosis: 2010. *Cell death & disease*, 1(11), e99-e99 (2010).
29. Lucas, S., & Nelson, A.M. HIV and the spectrum of human disease. *The Journal of pathology*, 235(2), 229-241 (2015).
30. Zedalis, J., & Eggebrecht, J. *Biology for AP® Courses*. Rice University (2018).
31. Rizzuto, C.D. et al. A conserved HIV gp120 glycoprotein structure involved in chemokine receptor binding. *Science*, 280(5371), 1949-1953 (1998).
32. Kwong, P. D. et al. Structure of an HIV gp 120 envelope glycoprotein in complex with the CD4 receptor and a neutralizing human antibody. *Nature* (1998).
33. Michaud, V. 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).
34. Engelman, A. & Cherepanov, P. The structural biology of HIV-1: mechanistic and therapeutic insights. *Nature Reviews Microbiology*, 10(4), 279-290 (2012).
35. Kohl, N.E. et al. Active human immunodeficiency virus protease is required for viral infectivity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 85(13), 4686-4690 (1998).
36. Sousa Neto, A.L.D. et al. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para o manejo da infecção pelo HIV em adultos. *Rev. enferm. UFPE on line*, 3533-3534 (2018).
37. Hoffmann, C. & Rockstroh, J. *HIV 2015/16*. Medizin Fokus Verlag (2015).
38. Ye, L.L. et al. The significance of tumor necrosis factor receptor type II in CD8+ regulatory T cells and CD8+ effector T cells. *Frontiers in immunology*, 9, 583 (2018).
39. Lu, J. et al. Changes in peripheral blood inflammatory factors (TNF- α and IL-6) and intestinal flora in AIDS and HIV-positive individuals. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 20(10), 793-802 (2019).
40. Nakanjako, D. et al. High T-cell immune activation and immune exhaustion among individuals with suboptimal CD4 recovery after 4 years of antiretroviral therapy in an African cohort. *BMC Infect. Dis.* 11, 43 (2011).
41. Li, T. et al. Reduced thymic output is a major mechanism of immune reconstitution failure in HIV-infected patients after long-term antiretroviral therapy. *Clinical Infectious Diseases*, 53(9), 944-951 (2011).

42. Trickey, A. et al. Survival of HIV-positive patients starting antiretroviral therapy between 1996 and 2013: a collaborative analysis of cohort studies. *The Lancet HIV*, 4(8), e349-e356 (2017).
43. Tozzi, V. Pharmacogenetics of antiretrovirals. *Antiviral research*, 85(1), 190-200 (2010).
44. Rodger, A.J. et al. Mortality in well controlled HIV in the continuous antiretroviral therapy arms of the SMART and ESPRIT trials compared with the general population. (2013). doi:10.1097/QAD.0b013e32835cae9c
45. Deeks, S.G., Lewin, S.R. & Havlir, D.V. The end of AIDS: HIV infection as a chronic disease. *The Lancet*, 382(9903), 1525-1533 (2013).
46. Arts, E.J., & Hazuda, D.J. HIV-1 antiretroviral drug therapy. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2(4), a007161 (2012).
47. Barré-sinoussi, F., Ross, A. L. & Delfraissy, J. Past, present and future: 30 years of HIV research. *Nat. Publ. Gr.* 11, 877–883 (2013).
48. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in adults and adolescents living with HIV (2018).
49. Finzi, D. et al. Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. *Science*, 278(5341), 1295-1300 (1997).
50. Nixon, D.E. & Landay, A.L. Biomarkers of immune dysfunction in HIV. *Current Opinion in HIV and AIDS* (2010). doi:10.1097/COH.0b013e32833ed6f4
51. Cusato, J. et al. Precision medicine for HIV: Where are we? *Pharmacogenomics* (2018). doi:10.2217/pgs-2017-0123
52. Chaudhary, P. M., & Roninson, I. B. Expression and activity of P-glycoprotein, a multidrug efflux pump, in human hematopoietic stem cells. *Cell*, 66(1), 85-94 (1991).
53. Mitsuya, H. et al. 3'-Azido-3'-deoxythymidine (BW A509U): an antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 82(20), 7096-7100 (1985).
54. Nunes Júnior, S. S., & Ciosak, S. I. (2018). Terapia antirretroviral para HIV/AIDS: o estado da arte. *Rev. enferm. UFPE on line*, 1103-1111 (2018).

55. Barros, S. G. D., & Vieira-da-Silva, L. M. A terapia antirretroviral combinada, a política de controle da Aids e as transformações do Espaço Aids no Brasil dos anos 1990. *Saúde em Debate*, 41, 114-128 (2017).
56. Cressey, T. R. & Lallemand, M. Pharmacogenetics of antiretroviral drugs for the treatment of HIV-infected patients: An update. *Infect. Genet. Evol.* (2007).
57. Insight Start Study Group. Initiation of antiretroviral therapy in early asymptomatic HIV infection. *New England Journal of Medicine*, 373(9), 795-807 (2015).
58. Nash, D. & Robertson, M. How to Evolve the Response to the Global HIV Epidemic With New Metrics and Targets Based on Pre-Treatment CD4 Counts. *Curr. HIV/AIDS Rep.* 304–313 (2019).
59. Moore, R. D., & Keruly, J. C. CD4+ cell count 6 years after commencement of highly active antiretroviral therapy in persons with sustained virologic suppression. *Clinical infectious diseases*, 44(3), 441-446. (2007).
60. Darraj, M. et al. Rapid CD4 decline prior to antiretroviral therapy predicts subsequent failure to reconstitute despite HIV viral suppression. *Journal of infection and public health*, 11(2), 265-269 (2018).
61. Kufa, T. et al. CD4 count recovery and associated factors among individuals enrolled in the South African antiretroviral therapy programme: An analysis of national laboratory based data. *PloS one*, 14(5), e0217742 (2019).
62. Kroeze, S. et al. Suboptimal immune recovery during antiretroviral therapy with sustained HIV suppression in sub-Saharan Africa. *Aids*, 32(8), 1043-1051 (2018).
63. Corbeau, P., & Reynes, J. Immune reconstitution under antiretroviral therapy: the new challenge in HIV-1 infection. *Blood*, 117(21), 5582-5590 (2011).
64. Rodger, A. J. et al. Risk of HIV transmission through condomless sex in serodifferent gay couples with the HIV-positive partner taking suppressive antiretroviral therapy (PARTNER): final results of a multicentre, prospective, observational study. *The Lancet*, 393(10189), 2428-2438 (2019).
65. Mu, Y. et al. The dawn of precision medicine in HIV: state of the art of pharmacotherapy. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 19(14), 1581-1595 (2019).

66. Chawla, A., Wang, C., Patton, C. & Murray, M. A Review of Long-Term Toxicity of Antiretroviral Treatment Regimens and Implications for an Aging Population. *Infect. Dis. Ther.* 7, 183–195 (2018).
67. Peterson, T. E., & Baker, J. V. Assessing inflammation and its role in comorbidities among persons living with HIV. *Current opinion in infectious diseases*, 32(1), 8-15 (2019).
68. Li, H. et al. The role of ARV associated adverse drug reactions in influencing adherence among HIV-infected individuals: a systematic review and qualitative meta-synthesis. *AIDS and Behavior*, 21(2), 341-351 (2017).
69. Weldegebreal, F., Mitiku, H., & Teklemariam, Z. Magnitude of adverse drug reaction and associated factors among HIV-infected adults on antiretroviral therapy in Hiwot Fana specialized university hospital, eastern Ethiopia. *Pan African Medical Journal*, 24(1) (2016).
70. Montessori, V., Press, N., Harris, M., Akagi, L. & Montaner, J. S. G. Adverse effects of antiretroviral therapy for HIV infection. 170, 229–238 (2004).
71. Meyer, U. A. Pharmacogenetics—five decades of therapeutic lessons from genetic diversity. *Nature Reviews Genetics*, 5(9), 669-676 (2004).
72. Rosenbaum, S. & Jost, T. S. All Heat, No Light — The States' Medicaid Claims before the Supreme Court. *N. Engl. J. Med.* (2012). doi:10.1056/NEJMp1114480
73. Aspiroz, E. L. et al. Individualized protease inhibitor monotherapy: the role of pharmacokinetics and pharmacogenetics in an aged and heavily treated HIV-Infected patient. *Clinical Drug Investigation*, 39(11), 1125-1131 (2019).
74. García-Blanco, D. et al. Pharmacogenetic markers: A path toward individualized HIV therapy. *Medic review*, 21, 59-68 (2019).
75. Saag, M. et al. High Sensitivity of Human Leukocyte Antigen–B*5701 as a Marker for Immunologically Confirmed Abacavir Hypersensitivity in White and Black Patients. *Clin. Infect. Dis.* (2008). doi:10.1086/529382
76. Hetherington, S. et al. Hypersensitivity reactions during therapy with the nucleoside reverse transcriptase inhibitor abacavir. *Clinical therapeutics*, 23(10), 1603-1614 (2001).
77. Hetherington, S. et al. Genetic variations in HLA-B region and hypersensitivity reactions to abacavir. *Lancet* (2002). doi:10.1016/S0140-6736(02)08158-8

78. The right drug for you. *Nature* 537 (2016).
79. Mallal, S. et al. HLA-B* 5701 screening for hypersensitivity to abacavir. *New England Journal of Medicine*, 358(6), 568-579 (2008).
80. Rodriguez-Nóvoa, S. & Soriano, V. Current trends in screening across ethnicities for hypersensitivity to abacavir. *Pharmacogenomics* (2008). doi:10.2217/14622416.9.10.1531
81. Sun, H. et al. Incidence of abacavir hypersensitivity and its relationship with HLA-B*5701 in HIV-infected patients in Taiwan. 599–604 (2007). doi:10.1093/jac/dkm243
82. Chessman, D. et al. Article Human Leukocyte Antigen Class I-Restricted Activation of CD8 + T Cells Provides the Immunogenetic Basis of a Systemic Drug Hypersensitivity (2007). doi:10.1016/j.immuni.2008.04.020
83. Mallal, S. et al. Association between presence of HLA-B* 5701, HLA-DR7, and HLA-DQ3 and hypersensitivity to HIV-1 reverse-transcriptase inhibitor abacavir. *The Lancet*, 359(9308), 727-732 (2002).
84. Mauss, S., Berger, F. & Schmutz, G. Antiretroviral therapy with tenofovir is associated with mild renal dysfunction. *Aids*, 19(1), 93-95 (2005).
85. Kinai, E. & Hanabusa, H. Progressive renal tubular dysfunction associated with long-term use of tenofovir DF. 25, 19361280 (2009).
86. Casado, J. L. Renal and bone toxicity with the use of tenofovir: understanding at the end. *Aids Rev*, 18(2), 59-68. (2016).
87. Nishijima, T. et al. Single nucleotide polymorphisms in ABCC2 associate with tenofovir-induced kidney tubular dysfunction in japanese patients with HIV-1 infection: A pharmacogenetic study. *Clin. Infect. Dis.* (2012). doi:10.1093/cid/cis772
88. Sanchez Martin, A. et al. Impact of pharmacogenetics on CNS side effects related to efavirenz. *Pharmacogenomics*, 14(10), 1167-1178 (2013).
89. Desta, Z. et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for CYP2B6 and efavirenz-containing antiretroviral therapy. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 106(4), 726-733 (2019).
90. Lang, T. et al. Extensive genetic polymorphism in the human CYP2B6 gene with impact on expression and function in human liver. *Pharmacogenetics and Genomics*, 11(5), 399-415 (2001).

91. Fellay, J. et al. Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: A pharmacogenetics study. *Lancet* (2002).
92. Haas, D. W. et al. Pharmacogenetics of efavirenz and central nervous system side effects: an Adult AIDS Clinical Trials Group study. *Aids*, 18(18), 2391-2400 (2004).
93. Chantarangsu, S. et al. HLA-B* 3505 allele is a strong predictor for nevirapine-induced skin adverse drug reactions in HIV-infected Thai patients. *Pharmacogenet. Genomics* (2009). doi:10.1097/FPC.0b013e32831d0faf
94. Yuan, J. *et al.* Toxicogenomics of nevirapine-associated cutaneous and hepatic adverse events among populations of African, Asian, and European descent. *AIDS (London, England)*, 25(10), 1271 (2011).
95. Carr, D. F. *et al.* Association of human leukocyte antigen alleles and nevirapine hypersensitivity in a Malawian HIV-infected population. *Clinical Infectious Diseases*, 56(9), 1330-1339 (2013).
96. Dieterich, D. T. et al. Drug-induced liver injury associated with the use of nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitors. *Clinical Infectious Diseases*, 38(Supplement_2), S80-S89 (2004).
97. Martin, A. M. et al. Predisposition to nevirapine hypersensitivity associated with HLA-DRB1* 0101 and abrogated by low CD4 T-cell counts. *Aids*, 19(1), 97-99 (2005).
98. Gatanaga, H. et al. HLA-Cw8 primarily associated with hypersensitivity to nevirapine. *Aids*, 21(2), 264-265 (2007).
99. Littera, R. *et al.* HLA-dependent hypersensitivity to nevirapine in Sardinian HIV patients. *Aids*, 20(12), 1621-1626 (2006).
100. Lubomirov, R. et al. Association of pharmacogenetic markers with premature discontinuation of first-line anti-HIV therapy: an observational cohort study. *Journal of infectious diseases*, 203(2), 246-257 (2011).
101. Nóvoa, S. R. et al. Plasma levels of atazanavir and the risk of hyperbilirubinemia are predicted by the 3435C→T polymorphism at the multidrug resistance gene 1. *Clinical infectious diseases*, 42(2), 291-295 (2006).

102. Rodríguez-Nóvoa, S. et al. Genetic factors influencing atazanavir plasma concentrations and the risk of severe hyperbilirubinemia. *Aids*, 21(1), 41-46 (2007).
103. Zhang, D. *et al*/In vitro inhibition of UDP glucuronosyltransferases by atazanavir and other HIV protease inhibitors and the relationship of this property to in vivo bilirubin glucuronidation. *Drug metabolism and disposition*, 33(11), 1729-1739 (2005).
104. Park, W. B. et al. Genetic factors influencing severe atazanavir-associated hyperbilirubinemia in a population with low UDP-glucuronosyltransferase 1A1* 28 allele frequency. *Clinical infectious diseases*, 51(1), 101-106. (2010).
105. Bosma, P. J. et al. The genetic basis of the reduced expression of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase 1 in Gilbert's syndrome. *New England Journal of Medicine*, 333(18), 1171-1175 (1995).
106. Kim, K. H., Yi, J., & Lee, S. H. The CD4 slope can be a predictor of immunologic recovery in advanced HIV patients: a case-control study. *The Korean journal of internal medicine*, 30(5), 705. (2015).
107. Kelley, C. F. et al. Incomplete peripheral CD4+ cell count restoration in HIV-infected patients receiving long-term antiretroviral treatment. *Clinical Infectious Diseases*, 48(6), 787-794 (2009).
108. Nakanjako, D. et al. Frequency and impact of suboptimal immune recovery on first-line antiretroviral therapy within the International Epidemiologic Databases to Evaluate AIDS in East Africa. *AIDS (London, England)*, 30(12), 1913 (2016).
109. Kim, Y.C. et al. Survival Trend of HIV/AIDS Patients Starting Antiretroviral Therapy in South Korea between 2001 and 2015. *Yonsei medical journal*, 61(8), 705 (2020).
110. WORLD HEALTH ORGANIZATION. WHO definitions of clinical, immunological and virological failure for the decision to switch ART regimens (2013).
111. Nakanjako, D. et al. Sub-optimal CD4 reconstitution despite viral suppression in an urban cohort on antiretroviral therapy (ART) in sub-Saharan Africa: frequency and clinical significance. *AIDS research and therapy*, 5(1), 23. (2008).
112. Sarfo, F. S. et al. Pharmacogenetic associations with plasma efavirenz concentrations and clinical correlates in a retrospective cohort of Ghanaian HIV-

- infected patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(2), 491-499 (2014).
113. Teixeira, L. et al. Poor CD4 T cell restoration after suppression of HIV-1 replication may reflect lower thymic function. *Aids*, 15(14), 1749-1756. (2001).
 114. García, M. et al. CD4 recovery is associated with genetic variation in IFN γ and IL19 genes. *Antiviral research*, 170, 104577 (2019).
 115. Haas, D. W. et al. Immunogenetics of CD4 lymphocyte count recovery during antiretroviral therapy: An AIDS Clinical Trials Group study. *The Journal of infectious diseases*, 194(8), 1098-1107 (2006).
 116. Yang, X. et al. Incomplete immune reconstitution in HIV/AIDS patients on antiretroviral therapy: Challenges of immunological non-responders. *Journal of Leukocyte Biology*, 107(4), 597-612 (2020).
 117. Veloso Carvalho-Silva, W. H. et al. Genetics and immunological recovery with antiretroviral treatment for HIV (2020).
 118. Gandhi, R. T. et al. Effect of baseline-and treatment-related factors on immunologic recovery after initiation of antiretroviral therapy in HIV-1-positive subjects: results from ACTG 384. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 42(4), 426-434 (2006).
 119. Negredo, E. et al. Nadir CD4 T cell count as predictor and high CD4 T cell intrinsic apoptosis as final mechanism of poor CD4 T cell recovery in virologically suppressed HIV-infected patients: clinical implications. *Clinical infectious diseases*, 50(9), 1300-1308 (2010).
 120. He, S. et al. Thymic function is most severely impaired in chronic HIV-1 infection, but individuals with faster disease progression during early HIV-1 infection expressed lower levels of RTEs. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 70(5), 472-478 (2015).
 121. Restrepo, C. et al. Genetic variation in CCR2 and CXCL12 genes impacts on CD4 restoration in patients initiating cART with advanced immunosuppression. *PloS one*, 14(3), e0214421 (2019).
 122. Deeks, S. G., Tracy, R., & Douek, D. C. Systemic effects of inflammation on health during chronic HIV infection. *Immunity*, 39(4), 633-645 (2013).

123. Hoffmann, C. et al. CD4+ and CD8+ T-cell kinetics in aviremic HIV-infected patients developing Hodgkin or non-Hodgkin lymphoma. *Aids*, 30(5), 753-760 (2016).
124. Lapadula, G. et al. Risk of clinical progression among patients with immunological nonresponse despite virological suppression after combination antiretroviral treatment. *Aids*, 27(5), 769-779 (2013).
125. Aukrust, P. et al. Serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF α) and soluble TNF receptors in human immunodeficiency virus type 1 infection-correlations to clinical, immunologic, and virologic parameters. *Journal of Infectious Diseases*, 169(2), 420-424 (1994).
126. Wilson, A. G. et al. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor α promoter on transcriptional activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(7), 3195-3199 (1997).
127. Marotte, H. et al. Association between the level of circulating bioactive tumor necrosis factor α and the tumor necrosis factor α gene polymorphism at- 308 in patients with rheumatoid arthritis treated with a tumor necrosis factor α inhibitor. *Arthritis & Rheumatism*, 58(5), 1258-1263. (2008).
128. Hofmann, M. H. 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).
129. Habtewold, A. et al. Long-term effect of efavirenz autoinduction on plasma/peripheral blood mononuclear cell drug exposure and CD4 count is influenced by UGT2B7 and CYP2B6 genotypes among HIV patients. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 66(10), 2350-2361 (2011).
130. Zhu, P. et al. ABCB1 variation and treatment response in AIDS patients: initial results of the Henan cohort. *PloS one*, 8(1), e55197 (2013).
131. Hitzl, M. et al. The C3435T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of the P-glycoprotein substrate rhodamine 123 from CD56+ natural killer cells. *Pharmacogenetics and Genomics*, 11(4), 293-298 (2001).
132. Pearce, R. E. et al. Developmental expression of CYP2B6: a comprehensive analysis of mRNA expression, protein content and bupropion hydroxylase

- activity and the impact of genetic variation. *Drug Metabolism and Disposition*, 44(7), 948-958 (2016).
133. Zubiaur, P. et al. Influence of CYP2B6 activity score on the pharmacokinetics and safety of single dose efavirenz in healthy volunteers. *The Pharmacogenomics Journal*, 20(2), 235-245 (2020).
 134. Rotger, M. et al. Swiss HIV cohort study: Influence of CYP2B6 polymorphism on plasma and intracellular concentrations and toxicity of efavirenz and nevirapine in HIV-infected patients. *Pharmacogenet Genomics*, 15(1), 1-5 (2005).
 135. González-Castro, T. B., & Tovilla-Zárate, C. A. Meta-analysis: a tool for clinical and experimental research in psychiatry. *Nordic journal of psychiatry*, 68(4), 243-250 (2014).
 136. Higgins, J. P. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions*. Version 5.1. 0 [updated March 2011]. The Cochrane Collaboration. www.cochrane-handbook.org (2011).
 137. Moher, D. et al. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Int J Surg*, 8(5), 336-341 (2010).
 138. Schulz, K. F., & Grimes, D. A. Case-control studies: research in reverse. *The Lancet*, 359(9304), 431-434 (2002).
 139. Miller, S. A., Dykes, D. D., & Polesky, H. F. R. N. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids research*, 16(3), 1215 (1988).
 140. Hoffmeyer, S. O. O. H. P. J. A. I. T. I. M. U. et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(7), 3473-3478 (2000).
 141. Queiroz, M. A. F. 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).
 142. Antinori, A. et al. Late presentation of HIV infection: a consensus definition. *HIV medicine*, 12(1), 61-64 (2011).

143. Martin, A. M. et al. Predisposition to abacavir hypersensitivity conferred by HLA-B* 5701 and a haplotypic Hsp70-Hom variant. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(12), 4180-4185 (2004).
144. Hughes, A. R. et al. Association of genetic variations in HLA-B region with hypersensitivity to abacavir in some, but not all, populations. *Pharmacogenomics*, 5(2), 203-211 (2004).
145. Rauch, A. et al. Prospective genetic screening decreases the incidence of abacavir hypersensitivity reactions in the Western Australian HIV cohort study. *Clinical infectious diseases*, 43(1), 99-102 (2006).
146. Rodríguez-Nóvoa, S. et al. Value of the HLA-B* 5701 allele to predict abacavir hypersensitivity in Spaniards. *AIDS research and human retroviruses*, 23(11), 1374-1376 (2007).
147. Colombo, S. et al. The HCP5 single-nucleotide polymorphism: a simple screening tool for prediction of hypersensitivity reaction to abacavir. *The Journal of infectious diseases*, 198(6), 864-867 (2008).
148. Crovella, S. et al. Frequency of HLA B* 5701 allele carriers in abacavir treated-HIV infected patients and controls from northeastern Brazil. *Clinics*, 66(8), 1485-1488 (2011).
149. Chakravarty, J. et al. Clinical abacavir hypersensitivity reaction among children in India. *The Indian Journal of Pediatrics*, 83(8), 855-858 (2016).
150. Manglani, M. V. et al. HLA-B* 5701 allele in HIV-infected Indian children and its association with Abacavir hypersensitivity. *Indian pediatrics*, 55(2), 140-141 (2018).
151. Rodríguez-Nóvoa, S. et al. Value of the HLA-B* 5701 allele to predict abacavir hypersensitivity in Spaniards. *AIDS research and human retroviruses*, 23(11), 1374-1376 (2007).
152. Izzedine, H. et al. Association between ABCC2 gene haplotypes and tenofovir-induced proximal tubulopathy. *The Journal of infectious diseases*, 194(11), 1481-1491 (2006).
153. Rodríguez-Nóvoa, S. et al. Predictors of kidney tubular dysfunction in HIV-infected patients treated with tenofovir: a pharmacogenetic study. *Clinical Infectious Diseases*, 48(11), e108-e116 (2009).

154. Pushpakom, S. P. *et al.* Genetic variants of ABCC10, a novel tenofovir transporter, are associated with kidney tubular dysfunction. *Journal of Infectious Diseases*, 204(1), 145-153 (2011).
155. Giacomet, V. *et al.* Tenofovir-induced renal tubular dysfunction in vertically HIV-infected patients associated with polymorphisms in ABCC2, ABCC4 and ABCC10 genes. *The Pediatric Infectious Disease Journal*, 32(10), e403-e405 (2013).
156. Dahlin, A. *et al.* A pharmacogenetic candidate gene study of tenofovir-associated Fanconi syndrome. *Pharmacogenetics and genomics*, 25(2), 82 (2015).
157. Nishijima, T. *et al.* Drug transporter genetic variants are not associated with TDF-related renal dysfunction in patients with HIV-1 infection: a Pharmacogenetic study. *PloS one*, 10(11), e0141931 (2015).
158. Likanonsakul, S. *et al.* A single-nucleotide polymorphism in ABCC4 is associated with tenofovir-related beta2-microglobulinuria in Thai patients with HIV-1 infection. *PLoS One*, 11(1), e0147724 (2016).
159. Salvaggio, S. E. *et al.* Clinical and genetic factors associated with kidney tubular dysfunction in a real-life single centre cohort of HIV-positive patients. *BMC infectious diseases*, 17(1), 396 (2017).
160. Danjuma, M. I. *et al.* Polymorphisms of tenofovir disoproxil fumarate transporters and risk of kidney tubular dysfunction in HIV-positive patients: genetics of tenofovir transporters. *International journal of STD & AIDS*, 29(14), 1384-1389 (2018).
161. Hasse, B. *et al.* Efavirenz intoxication due to slow hepatic metabolism. *Clinical Infectious Diseases*, 40(3), e22-e23 (2005).
162. Lowenhaupt, E. A. *et al.* Psychosis in a 12-year-old HIV-positive girl with an increased serum concentration of efavirenz. *Clinical infectious diseases*, 45(10), e128-e130. (2007).
163. Usami, O. *et al.* Efavirenz-induced neurological symptoms in rare homozygote CYP2B6* 2/* 2 (C64T). *International journal of STD & AIDS*, 18(8), 575-576 (2007).

164. Saitoh, A. et al. Efavirenz pharmacokinetics in HIV-1-infected children are associated with CYP2B6-G516T polymorphism. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 45(3), 280-285. (2007).
165. Ramachandran, G. et al. Association of high T allele frequency of CYP2B6 G516T polymorphism among ethnic south Indian HIV-infected patients with elevated plasma efavirenz and nevirapine. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 63(4), 841-843 2009).
166. Figueroa, S. C. et al. The convergence of therapeutic drug monitoring and pharmacogenetic testing to optimize efavirenz therapy. *Therapeutic drug monitoring*, 32(5), 579-585. (2010).
167. Gounden, V. 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 research and therapy*, 7(1), 32 (2010).
168. Ribaud, H. J. et al. Effect of CYP2B6, ABCB1, and CYP3A5 polymorphisms on efavirenz pharmacokinetics and treatment response: an AIDS Clinical Trials Group study. *The Journal of infectious diseases*, 202(5), 717-722 (2010).
169. Strehlau, R. et al. Absence seizures associated with efavirenz initiation. *The Pediatric infectious disease journal*, 30(11), 1001 (2011).
170. Anagnostopoulos, A. et al. Case report Efavirenz intoxication due to a new CYP2B6 constellation. *Antiviral therapy*, 18, 739-743 (2013).
171. Dhoru, M. et al. Genetic variants of drug metabolizing enzymes and drug transporter (ABCB1) as possible biomarkers for adverse drug reactions in an HIV/AIDS cohort in Zimbabwe. *Current HIV research*, 11(6), 481-490 (2013).
172. Martín, A. S. et al. Dose reduction of efavirenz: an observational study describing cost-effectiveness, pharmacokinetics and pharmacogenetics. *Pharmacogenomics*, 15(7), 997-1006 (2014).
173. Damronglerd, P. et al. A pharmacogenomic prospective randomized controlled trial of CYP2B6 polymorphisms and efavirenz dose adjustment among HIV-infected Thai patients: a pilot study. *Pharmacogenomics and personalized medicine*, 8, 155 (2015).
174. Dickinson, L. et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparison of once-daily efavirenz (400 mg vs. 600 mg) in treatment-naïve HIV-infected

- patients: results of the ENCORE1 study. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 98(4), 406-416 (2015).
175. Lee, S. S. et al. Sleep quality in efavirenz-treated Chinese HIV patients—comparing between GT and GG genotype of CYP2B6-516 G/T polymorphisms. *International journal of STD & AIDS*, 25(3), 193-200 (2015).
 176. Leger, P. et al. Pharmacogenetics of efavirenz discontinuation for reported central nervous system symptoms appears to differ by race. *Pharmacogenetics and genomics*, 26(10), 473 (2016).
 177. Dickinson, L. et al. Comprehensive pharmacokinetic, pharmacodynamic and pharmacogenetic evaluation of once-daily efavirenz 400 and 600 mg in treatment-naïve HIV-infected patients at 96 weeks: results of the ENCORE1 study. *Clinical pharmacokinetics*, 55(7), 861-873 (2016).
 178. Mathiesen, S. et al. Genotyping of CYP2B6 and therapeutic drug monitoring in an HIV-infected patient with high efavirenz plasma concentrations and severe CNS side-effects. *Scandinavian journal of infectious diseases*, 38(8), 733-735 (2006).
 179. Pinillos, F. et al. Case report: Severe central nervous system manifestations associated with aberrant efavirenz metabolism in children: the role of CYP2B6 genetic variation. *BMC infectious diseases*, 16(1), 56 (2015).
 180. Mueller, T. E. 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).
 181. Mollan, K. R. et al. Race/ethnicity and the pharmacogenetics of reported suicidality with efavirenz among clinical trials participants. *The Journal of infectious diseases*, 216(5), 554-564 (2017).
 182. Gallien, S. et al. Cytochrome 2B6 polymorphism and efavirenz-induced central nervous system symptoms: a substudy of the ANRS ALIZE trial. *HIV medicine*, 18(8), 537-545. (2017).
 183. Gross, R. et al. CYP2B6 genotypes and early efavirenz-based HIV treatment outcomes in Botswana. *AIDS (London, England)*, 31(15), 2107 (2017)

184. Sandkovsky, U. et al. Impact of efavirenz pharmacokinetics and pharmacogenomics on neuropsychological performance in older HIV-infected patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(1), 200-204 (2016).
185. de Almeida, T. B. et al. Drug metabolism and transport gene polymorphisms and efavirenz adverse effects in Brazilian HIV-positive individuals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(9), 2460-2467 (2018).
186. Haas, D. W. et al. Brain neurotransmitter transporter/receptor genomics and efavirenz central nervous system adverse events. *Pharmacogenetics and genomics*, 28(7), 179 (2018).
187. Ritchie, M. D. Haas DW, Motsinger AA, Donahue JP, Erdem H, Raffanti S, Rebeiro P, George AL, Kim RB, Haines JL (Vol. 43, pp. 779-782). Sterling TR. Drug transporter and metabolizing enzyme gene variants and nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitor hepatotoxicity. *Clin Infect Dis* 2006.
188. Rodrigues-Soares, F., & Suarez-Kurtz, G. Pharmacogenomics research and clinical implementation in Brazil. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 124(5), 538-549 (2019).
189. Vitezica, Z. G. et al. HLA-DRB1* 01 associated with cutaneous hypersensitivity induced by nevirapine and efavirenz. *Aids*, 22(4), 540-541 (2008).
190. Cummins, N. W. et al. Investigation of efavirenz discontinuation in multi-ethnic populations of HIV-positive individuals by genetic analysis. *EBioMedicine*, 2(7), 706-712 (2015).
191. Haas, D. 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).
192. Saitoh, A. et al. An MDR1-3435 variant is associated with higher plasma nelfinavir levels and more rapid virologic response in HIV-1 infected children. *Aids*, 19(4), 371-380 (2005)
193. Glass, T. R. et al. Determinants of sustained viral suppression in HIV-infected patients with self-reported poor adherence to antiretroviral therapy. *PloS one*, 7(1), e29186 (2012).
194. Ngaimisi, E. 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).
195. Haas, D. W. et al. Functional CYP2B6 variants and virologic response to an efavirenz-containing regimen in Port-au-Prince, Haiti. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(8), 2187-2190 (2014).
 196. Röhrich, C. R. et al. CYP2B6* 6 and CYP2B6* 18 predict long-term efavirenz exposure measured in hair samples in HIV-positive South African women. *AIDS research and human retroviruses*, 32(6), 529-538 (2016).
 197. Vujkovic, M. et al. CYP2B6 516G> T Minor Allele Protective of Late Virologic Failure in Efavirenz-treated HIV-Infected Patients in Botswana. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*, 75(4), 488 (2017).
 198. Carr, D. F. et al. CYP2B6 c. 983T> C polymorphism is associated with nevirapine hypersensitivity in Malawian and Ugandan HIV populations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(12), 3329-3334 (2014).
 199. Ciccacci, C. et al. Association between CYP2B6 polymorphisms and Nevirapine-induced SJS/TEN: a pharmacogenetics study. *European journal of clinical pharmacology*, 69(11), 1909-1916 (2013).
 200. Likansakul, S. et al. HLA-Cw* 04 allele associated with nevirapine-induced rash in HIV-infected Thai patients. *AIDS research and therapy*, 6(1), 22 (2009).
 201. Gozalo, C. et al. Pharmacogenetics of toxicity, plasma trough concentration and treatment outcome with nevirapine-containing regimen in anti-retroviral-naive HIV-infected adults: an exploratory study of the TRIANON ANRS 081 trial. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*, 109(6), 513-520 (2011).
 202. Borgiani, P. et al. HCP5 genetic variant (RS3099844) contributes to Nevirapine-induced Stevens Johnsons Syndrome/Toxic Epidermal Necrolysis susceptibility in a population from Mozambique. *European journal of clinical pharmacology*, 70(3), 275-278 (2014).
 203. Ciccacci, C. et al. A pharmacogenetics study in Mozambican patients treated with nevirapine: full resequencing of TRAF3IP2 gene shows a novel association with SJS/TEN susceptibility. *International journal of molecular sciences*, 16(3), 5830-5838 (2015).
 204. Ciccacci, C. et al. Impact of glutathione transferases genes polymorphisms in nevirapine adverse reactions: a possible role for GSTM1 in SJS/TEN

- susceptibility. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 73(10), 1253-1259 (2017).
205. Haas, D. W. (2006). Bartlett JA, Andersen JW, Sanne I, Wilkinson GR, Hinkle J, Rousseau F, Ingram CD, Shaw A, Lederman MM, Kim RB. Pharmacogenetics of nevirapine-associated hepatotoxicity: an Adult AIDS Clinical Trials Group collaboration. *Clin Infect Dis*, 43, 783-786 (2006).
 206. Ciccacci, C. et al. Nevirapine-induced hepatotoxicity and pharmacogenetics: a retrospective study in a population from Mozambique. *Pharmacogenomics*, 11(1), 23-31 (2010).
 207. Phillips, E. et al. Associations between HLA-DRB1* 0102, HLA-B* 5801 and hepatotoxicity during initiation of Nevirapine-containing regimens in South Africa. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999)*, 62(2), e55 (2013).
 208. Oluka, M. N. et al. Cytochrome P450 2B6 genetic variants are associated with plasma nevirapine levels and clinical response in HIV-1 infected Kenyan women: a prospective cohort study. *AIDS research and therapy*, 12(1), 10 (2015).
 209. Mhandire, D. et al. Effects of CYP2B6 and CYP1A2 genetic variation on nevirapine plasma concentration and pharmacodynamics as measured by CD4 cell count in Zimbabwean HIV-infected patients. *OmicS: a journal of integrative biology*, 19(9), 553-562 (2015).
 210. Aspiroz, E. L. et al. Toxicogenetics of lopinavir/ritonavir in HIV-infected European patients. *Personalized medicine*, 11(3), 263-272 (2014).
 211. Rotger, M. et al. Gilbert syndrome and the development of antiretroviral therapy-associated hyperbilirubinemia. *The Journal of infectious diseases*, 192(8), 1381-1386 (2005).
 212. Lankisch, T. O. et al. Gilbert's disease and atazanavir: From phenotype to UDP-glucuronosyltransferase haplotype. *Hepatology*, 44(5), 1324-1332 (2006).
 213. Choe, P. G. et al. Incidence of atazanavir-associated hyperbilirubinemia in Korean HIV patients: 30 months follow-up results in a population with low UDP-glucuronosyltransferase1A1* 28 allele frequency. *Journal of Korean medical science*, 25(10), 1427-1430 (2010).

214. Ferraris, L. et al. Switching to unboosted atazanavir reduces bilirubin and triglycerides without compromising treatment efficacy in UGT1A1* 28 polymorphism carriers. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(9), 2236-2242 (2012).
215. Turatti, L. et al. UGT1A1* 28 variant allele is a predictor of severe hyperbilirubinemia in HIV-infected patients on HAART in southern Brazil. *AIDS research and human retroviruses*, 28(9), 1015-1018 (2012).
216. Ribaldo, H. J. et al. Impact of UGT1A1 Gilbert variant on discontinuation of ritonavir-boosted atazanavir in AIDS Clinical Trials Group Study A5202. *The Journal of infectious diseases*, 207(3), 420-425 (2013).
217. Johnson, D. H. et al. Genome-wide association study of atazanavir pharmacokinetics and hyperbilirubinemia in AIDS Clinical Trials Group protocol A5202. *Pharmacogenetics and genomics*, 24(4), 195 (2014).
218. Panagopoulos, P. et al. High prevalence of the UGT1A1* 28 variant in HIV-infected individuals in Greece. *International journal of STD & AIDS*, 25(12), 860-865 (2014).
219. Kanestri, V. et al. Clinical significance of the UGT1A1* 28 allele detection in HIV-infected patients. *Journal of the International AIDS Society*, 17, 19579 (2014).
220. Vardhanabhuti, S. et al. Screening for UGT1A1 genotype in study A5257 would have markedly reduced premature discontinuation of atazanavir for hyperbilirubinemia. In *Open forum infectious diseases* (Vol. 2, No. 3, p. ofv085). Oxford University Press (2015).
221. Leger, P. et al. Race/ethnicity difference in the pharmacogenetics of bilirubin-related atazanavir discontinuation. *Pharmacogenetics and genomics*, 28(1), 1 (2018).
222. Anderson, P. L. et al. Pharmacogenetic characteristics of indinavir, zidovudine, and lamivudine therapy in HIV-infected adults: a pilot study. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 42(4), 441-449 (2006).
223. Arnedo, M. et al. Contribution of 20 single nucleotide polymorphisms of 13 genes to dyslipidemia associated with antiretroviral therapy. *Pharmacogenetics and genomics*, 17(9), 755-764 (2007).

224. Parathyras, J. et al. A pharmacogenetic study of CD4 recovery in response to HIV antiretroviral therapy in two South African population groups. *Journal of human genetics*, 54(5), 261-265 (2009).
225. Frasco, M. A. et al. Underlying genetic structure impacts the association between CYP2B6 polymorphisms and response to efavirenz and nevirapine. *AIDS (London, England)*, 26(16), 2097 (2012).
226. da Rocha, I. M. et al. Polymorphisms associated with renal adverse effects of antiretroviral therapy in a Southern Brazilian HIV cohort. *Pharmacogenetics and genomics*, 25(11), 541-547 (2015).
227. Canter, J. A. et al. The mitochondrial pharmacogenomics of haplogroup T: MTND2* LHON4917G and antiretroviral therapy-associated peripheral neuropathy. *The pharmacogenomics journal*, 8(1), 71-77 (2008).
228. Arruda, M. 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).
229. Pearce, C. L. et al. Pharmacogenetic Associations with ADME Variants and Virologic Response to an Initial HAART Regimen in HIV-Infected Women. *International journal of HIV/AIDS and research*, 4(3), 15 (2017).
230. Foulkes, A. S. et al. Associations among race/ethnicity, ApoC-III genotypes, and lipids in HIV-1-infected individuals on antiretroviral therapy. *PLoS Med*, 3(3), e52 (2006).
231. Coelho, A. V. et al. ABCB1 and ABCC1 variants associated with virological failure of first-line protease inhibitors antiretroviral regimens in Northeast Brazil patients. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 53(12), 1286-1293 (2013).
232. Popejoy, A. B., & Fullerton, S. M. Genomics is failing on diversity. *Nature News*, 538(7624), 161 (2016).
233. Sampaio, M. et al. Estudos de revisão sistemática: Um guia para síntese criteriosa da evidência científica. *Rev. Bras. Fisioter.* (2007).
234. Martin, M. A. et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium guidelines for HLA-B genotype and abacavir dosing: 2014 update. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 95(5), 499-500 (2014).
235. Rodriguez-Novoa, S., Labarga, P., & Soriano, V. Pharmacogenetics of tenofovir treatment. *Pharmacogenomics*, 10(10), 1675-1685 (2009).

236. Keane, N. M. et al. HLA Class I restricted CD8+ and Class II restricted CD4+ T cells are implicated in the pathogenesis of nevirapine hypersensitivity. *Aids*, 28(13), 1891-1901 (2014).
237. Wojcik, G. L. et al. Genetic analyses of diverse populations improves discovery for complex traits. *Nature*, 570(7762), 514-518 (2020)..
238. Little, J. et al. STrengthening the REporting of Genetic Association Studies (STREGA)—an extension of the STROBE statement. *Genetic Epidemiology: The Official Publication of the International Genetic Epidemiology Society*, 33(7), 581-598 (2009).
239. Lewis, C. M., & Knight, J. Introduction to genetic association studies. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2012(3), pdb-top068163 (2012).
240. Antinori, A. et al. Late presentation of HIV infection: a consensus definition. *HIV medicine*, 12(1), 61-64 (2011).
241. Valentini, M. B. et al. Evaluation of late presentation for HIV treatment in a reference center in Belo Horizonte, Southeastern Brazil, from 2008 to 2010. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 19(3), 253-262 (2015).
242. Hu, X. et al. HIV late presentation and advanced HIV disease among patients with newly diagnosed HIV/AIDS in Southwestern China: a large-scale cross-sectional study. *AIDS research and therapy*, 16(1), 6 (2019).
243. Socio-economic Inequalities and HIV Writing Group for Collaboration of Observational HIV Epidemiological Research in Europe (COHERE) in EuroCoord. Delayed HIV diagnosis and initiation of antiretroviral therapy: inequalities by educational level, COHERE in EuroCoord. *Aids*, 28(15), 2297-2306 (2014).
244. Lok, J. J. et al. Long-term increase in CD4+ T-cell counts during combination antiretroviral therapy for HIV-1 infection. *AIDS (London, England)*, 24(12), 1867 (2010).
245. Global trends in CD4 cell count at the start of antiretroviral therapy: collaborative study of treatment programs. *Clinical infectious diseases*, v. 66, n. 6, p. 893-903 (2018).
246. Carvalho-Silva, W. H. V. et al. CCR5 genotype and pre-treatment CD4+ T-cell count influence immunological recovery of HIV-positive patients during antiretroviral therapy. *Gene*, 144568 (2020).

247. Carmona, S. et al. Persistent High Burden of Advanced HIV Disease Among Patients Seeking Care in South Africa's National HIV Program : Data From a Nationwide Laboratory Cohort. *66*, 111–117 (2018).
248. Queiroz, M. A. F. 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).
249. Volberding, P. A. HIV Treatment and Prevention: An overview of recommendations from the 2016 IAS–USA Antiretroviral Guidelines Panel. *Topics in antiviral medicine*, *25*(1), 17 (2017).
250. Lewden, C. et al. HIV-infected adults with a CD4 cell count greater than 500 cells/mm³ on long-term combination antiretroviral therapy reach same mortality rates as the general population. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, *46*(1), 72-77 (2007).
251. Collaboration of Observational HIV Epidemiological Research Europe (COHERE) in EuroCoord, Lewden, C. et al. All-cause mortality in treated HIV-infected adults with CD4 \geq 500/mm³ compared with the general population: evidence from a large European observational cohort collaboration. *International journal of epidemiology*, *41*(2), 433-445 (2012).
252. Luz, P. M. et al. Long-term CD4+ cell count in response to combination antiretroviral therapy. *PloS one*, *9*(4), e93039 (2014).
253. Rodger, A. J. et al. Risk of HIV transmission through condomless sex in serodifferent gay couples with the HIV-positive partner taking suppressive antiretroviral therapy (PARTNER): final results of a multicentre, prospective, observational study. *The Lancet*, *393*(10189), 2428-2438 (2019).
254. Guillon, M., Celse, M., & Geoffard, P. Y. Economic and public health consequences of delayed access to medical care for migrants living with HIV in France. *The European Journal of Health Economics*, *19*(3), 327-340 (2018).
255. Bishop, J. D., Deshields, S., Cunningham, T. & Troy, S. B. CD4 Count Recovery After Initiation of Antiretroviral Therapy in Patients Infected With Human Immunodeficiency Virus. *Am. J. Med. Sci.* *352*, 239–244 (2016).

256. Andrade-santos, J. L. et al. *Infection , Genetics and Evolution* IL18 gene polymorphism and its influence on CD4 + T-cell recovery in HIV- positive patients receiving antiretroviral therapy. *Infect. Genet. Evol.* 75, 103997 (2019).
257. Fatti, G. et al. Antiretroviral treatment outcomes amongst older adults in a large multicentre cohort in South Africa. *PloS one*, 9(6), e100273 (2014).
258. Cornell, M. et al. Gender differences in survival among adult patients starting antiretroviral therapy in South Africa: a multicentre cohort study. *PLoS Med*, 9(9), e1001304 (2012).
259. Pido-Lopez, J., Imami, N., & Aspinall, R. Both age and gender affect thymic output: more recent thymic migrants in females than males as they age. *Clinical & Experimental Immunology*, 125(3), 409-413 (2001).
260. Carvalho-Silva, W. H. V. et al. Immunological recovery failure in cART-treated HIV-positive patients is associated with reduced thymic output and RTE CD4+ T cell death by pyroptosis. *Journal of Leukocyte Biology*, 107(1), 85-94 (2020).
261. Autenrieth, C. S. et al. Global and regional trends of people living with HIV aged 50 and over: Estimates and projections for 2000–2020. *PloS one*, 13(11), e0207005 (2018).
262. Renaud, M. et al. Determinants of paradoxical CD4 cell reconstitution after protease inhibitor-containing antiretroviral regimen. *Aids*, 13(6), 669-676 (1999).
263. Lederman, M. M. et al. Cellular restoration in HIV infected persons treated with abacavir and a protease inhibitor: age inversely predicts naive CD4 cell count increase. *Aids*, 14(17), 2635-2642 (2000).
264. Douek, D. C. et al. Changes in thymic function with age and during the treatment of HIV infection. *Nature*, 396(6712), 690-695 (1998).
265. MacArthur, R. D. et al. A comparison of three highly active antiretroviral treatment strategies consisting of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, protease inhibitors, or both in the presence of nucleoside reverse transcriptase inhibitors as initial therapy (CPCRA 058 FIRST Study): a long-term randomised trial. *The Lancet*, 368(9553), 2125-2135 (2006).
266. Cressey, T. R., & Lallemand, M. Pharmacogenetics of antiretroviral drugs for the treatment of HIV-infected patients: an update. *Infection, genetics and evolution*, 7(2), 333-342 (2007).

267. Rodriguez-Novoa, S. et al. Influence of 516G> T polymorphisms at the gene encoding the CYP450-2B6 isoenzyme on efavirenz plasma concentrations in HIV-infected subjects. *Clinical infectious diseases*, 40(9), 1358-1361 (2005).
268. Nasi, M. et al. MDR1 C3435T genetic polymorphism does not influence the response to antiretroviral therapy in drug-naive HIV-positive patients. *Aids*, 17(11), 1696-1698 (2003).
269. Winzer, R. et al. No influence of the P-glycoprotein polymorphisms MDR1 G2677T/A and C3435T on the virological and immunological response in treatment naive HIV-positive patients. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 4(1), 3 (2005).
270. Schaeffeler, E. et al. Frequency of C3435T polymorphism of MDR1 gene in African people. *The Lancet*, 358(9279), 383-384. (2001).
271. Rajasuriar, R. et al. Biological determinants of immune reconstitution in HIV-infected patients receiving antiretroviral therapy: the role of interleukin 7 and interleukin 7 receptor α and microbial translocation. *The Journal of infectious diseases*, 202(8), 1254-1264 (2010).
272. Bandera, A. et al. The NLRP3 inflammasome is upregulated in HIV-infected antiretroviral therapy-treated individuals with defective immune recovery. *Frontiers in Immunology*, 9, 214 (2018).
273. Aukrust, P. et al. Tumor Necrosis Factor (TNF) system levels in human immunodeficiency virus—infected patients during highly active antiretroviral therapy: persistent TNF activation is associated with virologic and immunologic treatment failure. *The Journal of infectious diseases*, 179(1), 74-82 (1999).
274. Benveniste, O. et al. Mechanisms Involved in the Low-Level Regeneration of CD4+ Cells in HIV-1—Infected Patients Receiving Highly Active Antiretroviral Therapy Who Have Prolonged Undetectable Plasma Viral Loads. *Journal of Infectious Diseases*, 191(10), 1670-1679 (2005).
275. Piconi, S. et al. Immune activation, apoptosis, and Treg activity are associated with persistently reduced CD4+ T-cell counts during antiretroviral therapy. *Aids*, 24(13), 1991-2000 (2010).
276. Wilson, E. M. et al. Monocyte-activation phenotypes are associated with biomarkers of inflammation and coagulation in chronic HIV infection. *The Journal of infectious diseases*, 210(9), 1396-1406 (2014).

277. Erikstrup, C. et al. Reduced mortality and CD4 cell loss among carriers of the interleukin-10- 1082G allele in a Zimbabwean cohort of HIV-1-infected adults. *Aids*, 21(17), 2283-2291 (2007).
278. Garrido, P. et al. Evaluation of functional single nucleotide polymorphisms of different genes coding for the immunoregulatory molecules in patients with monoclonal large granular lymphocyte lymphocytosis. *Human immunology*, 69(2), 101-107 (2008).

10. ANEXOS

Anexo 1: Parecer Consubstanciado do CEP

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
OESTE DA BAHIA - UFOB



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da Associação de Polimorfismos Genéticos com a Resposta à Terapia Antirretroviral em Pacientes com HIV/AIDS

Pesquisador: LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 67848517.9.0000.8060

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DO OESTE DA BAHIA

Patrocinador Principal: MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.318.825

Apresentação do Projeto:

O Projeto encontra-se coeso quando se refere aos objetivos propostos e metodologia utilizada. Atende a uma tendência contemporânea do trabalho científico, pois visa, a partir de estudos de polimorfismos nos pacientes portadores do vírus HIV, maximizar a eficácia do tratamento com antirretrovirais, visando uma terapia personalizada.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivos apresentados de forma clara e alcançáveis.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos e Benefícios apresentados de maneira clara, pertinentes com a proposta e seguem os princípios éticos de resguardar a privacidade dos sujeitos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A pesquisa apresenta relevância quanto aos objetivos e resultados esperados, sendo a metodologia adequada. Todas as diligências feitas foram atendidas de maneira satisfatória.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os documentos obrigatórios foram encaminhados e estão de acordo com o esperado.

Recomendações:

Inserir a quantidade total de páginas, como "1/x", visando garantir a integridade do documento.

Continuação do Parecer: 2.318.825

conforme recomendação da CONEP.

Ainda, recomenda-se que a pesquisadora reveja o dimensionamento amostral, a fim de testar as associações propostas no estudo.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto apresentou todos os documentos obrigatórios, os quais estão elaborados de maneira satisfatória.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_902146.pdf	15/09/2017 14:01:05		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tclebiorrepositorio.docx	15/09/2017 13:58:14	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoversao2p.pdf	15/09/2017 13:55:31	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projetodetalhadobrochurainvestigador.doc	17/06/2017 12:23:16	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito
Outros	tentativacadastralucianoreale.JPG	17/06/2017 12:07:44	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito
Outros	tentativacadastorenanpedradesouza.JPG	17/06/2017 12:07:11	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito
Outros	curriculolucianoreale.pdf	17/06/2017 12:03:08	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito
Outros	curriculorenanpedrasouza.pdf	17/06/2017 12:02:22	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito
Outros	curriculolucianacandido.pdf	17/06/2017 12:01:42	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório /	termoconstituicaobiorrepositorio2.pdf	17/06/2017 11:56:02	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito

UNIVERSIDADE FEDERAL DO
OESTE DA BAHIA - UFOB



Continuação do Parecer: 2.318.825

Biobanco	termoconstituicao biorrepositorio2.pdf	17/06/2017 11:56:02	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	termoconstituicao biorrepositorio1.pdf	17/06/2017 11:55:49	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	declaracaoanuencia.pdf	17/06/2017 11:53:33	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito
Outros	instrumentocoletadedados.docx	02/05/2017 15:15:32	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito
Declaração de Pesquisadores	termocompromissoconfidencialidadedados.pdf	02/05/2017 15:12:21	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	concordanciainstituicao coparticipante cessaodedados.pdf	02/05/2017 15:11:55	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	concordanciainstituicao coparticipante. pdf	02/05/2017 15:11:25	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito
Cronograma	cronograma.docx	02/05/2017 15:10:54	LUCIANA CRISTINA DE OLIVEIRA CANDIDO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

BARREIRAS, 06 de Outubro de 2017

Assinado por:
Ana Maria Mapeli
(Coordenador)

11. APÊNDICES

Apêndice 1: Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Título da pesquisa: Avaliação da Associação de Polimorfismos Genéticos com a Resposta à Terapia Antirretroviral em Pacientes com HIV/AIDS

<p>Pesquisador responsável Luciana Cristina de Oliveira Cândido</p> <p>Universidade Federal do Oeste da Bahia / Tel. (77) 3614-3216</p> <p>luciana.candido@ufob.edu.br</p> <p>Pesquisador Renan Pedra de Souza</p> <p>Local de trabalho: Universidade Federal de Minas Gerais</p> <p>Colaborador Dr. Luciano Argôlo Reale</p> <p>Local de trabalho: CTA SAE Edgard Pita / Tel. 55(77) 3613-9745</p>	<p>Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Federal do Oeste Baiano</p> <p>Endereço : Rua Professor José Seabra de Lemos, 316 – Recanto dos Pássaros. CEP: 47.808-021. Barreiras, Bahia.</p> <p>Tel. 55(77) 3614-3508.</p> <p>E-mail: cep@ufob.edu.br. Site: http://www.ufob.edu.br/a-ufob/estrutura/comissoes/comite-de-etica-em-pesquisa</p>
---	---

O senhor(a) está sendo convidado(a) a participar de um estudo sobre as diferenças genéticas envolvidas no resultado da terapia contra o HIV, cujo objetivo é identificar alterações genéticas (polimorfismos) que possam explicar por que em algumas pessoas o remédio contra o HIV não tem o efeito esperado e em outras pessoas causam efeitos adversos (colaterais). Tal pesquisa justifica-se pelo fato de estar comprovado que a presença de algumas alterações genéticas em pacientes com HIV/AIDS é responsável pela ocorrência de efeitos colaterais indesejáveis ou pela ineficácia dos remédios. Dessa forma, esta pesquisa terá como benefício a geração de conhecimento que poderá contribuir para que, no futuro, os médicos melhorem os tratamentos contra o HIV.

A sua participação no referido estudo será doar 4 ml do seu sangue colhido nos exames de rotina de acompanhamento do seu tratamento. Pedimos a sua autorização para o depósito, o armazenamento, a utilização e descarte do sangue coletado. Com a sua autorização, os seus prontuários serão analisados para coleta de dados como idade, sexo e resultados de exames. Sua privacidade será respeitada, ou seja, qualquer dado ou elemento que possa, de alguma forma, te identificar, será mantido em sigilo total e nenhuma pessoa fora da pesquisa terá acesso a essas informações. A utilização do seu material biológico (sangue) e informações está vinculada somente a este projeto de pesquisa ou se o Sr. (a) concordar em outros futuros.

Serão incluídos no estudo somente pacientes soropositivos para HIV, maiores de 18 anos, com histórico de tratamento antirretroviral, em tratamento corrente com antirretrovirais ou iniciando tratamento antirretroviral. Serão excluídos os pacientes com sorologia negativa ou não confirmada para o HIV e pacientes soropositivos para HIV sem histórico de tratamento de antirretrovirais e usuários de drogas ilícitas.

Quanto aos riscos da pesquisa, o Sr. (a) poderá sofrer apenas sintomas provocados pela coleta do sangue, como vermelhidão e dor no braço no local da coleta. Lhe será assegurada a assistência durante toda pesquisa, bem como garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências.

A sua participação na pesquisa é voluntária. Não haverá pagamento pela sua participação, embora, se for necessário seu deslocamento em função do estudo, será garantido o ressarcimento em dinheiro das suas despesas e de seu acompanhante (se necessário). Além disso, caso se sinta prejudicado devido a eventuais danos decorrentes da participação na pesquisa, terá o direito de solicitar indenização aos pesquisadores e, se necessário, será garantido o direito a assistência integral e gratuita pelo tempo que for necessário. O Sr. (a) poderá se recusar a participar do estudo ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar e sem prejudicar a assistência que já vem recebendo.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias originais, sendo que uma será arquivada pelo pesquisador responsável, na Universidade Federal do Oeste da Bahia, e a outra será fornecida ao Sr. (a). As duas vias deverão ser assinadas ao final pelo Sr. (a) ou por seu representante legal, bem como pelo pesquisador responsável, ou pela (s) pessoa (s) por ele delegada (s). Os dados, materiais e instrumentos utilizados na pesquisa ficarão arquivados com o pesquisador responsável por um período de 5 (cinco) anos e após esse tempo serão destruídos. Os pesquisadores tratarão a sua identidade com padrões profissionais de sigilo, atendendo a legislação brasileira (Resoluções Nº 466/12; 441/11 e a Portaria 2.201 do Conselho Nacional de Saúde e suas complementares), utilizando as informações somente para fins acadêmicos e científicos.

OBS: O senhor (a) pode assinalar o campo a seguir para receber o resultado desta pesquisa, caso seja de seu interesse:

() quero receber os resultados da pesquisa

(e-mail para envio: _____).

() não quero receber os resultados da pesquisa.

Eu declaro ter conhecimento das informações contidas neste documento e ter recebido respostas claras às minhas questões a respeito da minha participação na pesquisa e, adicionalmente, declaro ter compreendido o objetivo, a natureza, os riscos, benefícios, indenização relacionados a este estudo. Após reflexão, eu decidi, livre e voluntariamente, participar deste estudo. Declaro que recebi uma via deste documento.

ESCLARECIMENTOS SOBRE O COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA:

O Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos (CEP) é constituído por uma equipe de profissionais com formação multidisciplinar que estão trabalhando para assegurar o respeito aos seus direitos como participante de pesquisa. Ele tem por objetivo avaliar se a pesquisa foi planejada e será executada de forma ética. Se você considerar que a pesquisa não está sendo realizada da forma como você foi informado ou que você está sendo prejudicado de alguma forma, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade Federal do Oeste Baiano.

Nome completo do paciente:

RG: _____ Data de Nascimento: ___/___/_____

Telefone: _____ Endereço: _____

_____ CEP: _____

Cidade: _____ Estado: _____

Assinatura:

Data: ___/___/_____

Eu declaro ter apresentado o estudo, explicado seus objetivos, natureza, riscos e benefícios e ter respondido da melhor forma possível às questões formuladas.

Assinatura pesquisador (ou seu representante)

Data: ___/___/_____

Nome completo: _____

Para todas as questões relativas ao estudo ou para se retirar do mesmo, poderá se comunicar com Luciana Cristina de Oliveira Cândido, via e-mail: luciana.candido@ufob.edu.br ou telefone: (77) 3614-3216.

Apêndice 2: Argumentos de busca no PubMed/MEDLINE

Argumento 1 – Geral

("Pharmacogenetics"[Mesh] OR "Pharmacogenetics"[Title/Abstract] OR "Pharmacogenomics"[Title/Abstract] OR "Precision Medicine"[Mesh] OR "Precision Medicine"[Title/Abstract] OR "Personalized Medicine"[Title/Abstract] OR "Individualized Medicine"[Title/Abstract]) AND ("HIV"[Mesh] OR "HIV"[Title/Abstract] OR "Acquired Immunodeficiency Syndrome"[Mesh] OR "Acquired Immunodeficiency Syndrome"[Title/Abstract] OR "AIDS"[Title/Abstract] OR "Antiretroviral Therapy, Highly Active"[Mesh] OR "HAART"[Title/Abstract] OR "Anti-Retroviral Agents"[Mesh] OR "Anti-Retroviral Agents"[Title/Abstract] OR "Anti-Retroviral"[Title/Abstract] OR "Antiretroviral "[Title/Abstract] OR "Antiretroviral "[Title/Abstract]).

Argumento 2 – Abacavir

("Abacavir"[Mesh] OR "Abacavir"[Title/Abstract]) AND ("Hypersensitivity reaction"[Mesh] OR "Hypersensitivity reaction"[Title/Abstract] OR "HSRs"[Mesh] OR "HSRs"[Title/Abstract] AND ("AIDS"[Title/Abstract] OR "AIDS"[Mesh] OR "HIV"[Title/Abstract] OR "HIV"[Mesh] AND ("HLA-B*5701"[Title/Abstract] OR "HLA-B*5701"[Mesh] OR "HLA-B*57:01"[Title/Abstract] OR "HLA-B*57:01"[Mesh]))

Argumento 3 – Tenofovir

("Tenofovir/adverse effects"[Mesh] OR "Tenofovir/adverse effects"[Title/Abstract] OR "Tenofovir"[Mesh] OR "Tenofovir"[Title/Abstract]) AND ("kidney tubular dysfunction"[Title/Abstract] OR "kidney tubular dysfunction"[Mesh] OR "Kidney Diseases/genetics"[Title/Abstract] OR "Kidney Diseases/genetics"[Mesh]) AND ("polymorphisms"[Title/Abstract] OR "polymorphisms"[Mesh] OR "pharmacogenetics"[Title/Abstract] OR "pharmacogenetics"[Mesh])

Argumento 4 – Efavirenz

("Efavirenz/adverse effects"[Mesh] OR "Efavirenz/adverse effects"[Title/Abstract] OR "Efavirenz"[Mesh] OR "Efavirenz"[Title/Abstract]) AND ("central nervous system"[Title/Abstract] OR "central nervous system"[Mesh] OR "central nervous system side effects"[Title/Abstract] OR "central nervous system side effects"[Mesh] OR "Central Nervous System Diseases/genetics"[Title/Abstract] OR "Central Nervous System Diseases/genetics"[Mesh] OR "Central Nervous System Diseases/chemically induced"[Title/Abstract] OR "Central Nervous System Diseases/chemically induced"[Mesh] OR "central nervous system symptoms"[Title/Abstract] OR "central nervous system symptoms"[Mesh]) AND ("polymorphisms"[Title/Abstract] OR "polymorphisms"[Mesh] OR "pharmacogenetics"[Title/Abstract] OR "pharmacogenetics"[Mesh])

Argumento 5 – Nevirapina

("Nevirapine/adverse effects"[Mesh] OR "Nevirapine/adverse effects"[Title/Abstract]) AND ("Hypersensitivity reaction"[Title/Abstract] OR "Hypersensitivity reaction"[Mesh] OR "Hepatic adverse events"[Title/Abstract] OR "Hepatic adverse events"[Mesh] OR "skin rash"[Title/Abstract] OR "skin rash"[Mesh]) AND ("polymorphisms"[Title/Abstract] OR "polymorphisms"[Mesh] OR "pharmacogenetics"[Title/Abstract] OR "pharmacogenetics"[Mesh])

Argumento 6 – Nevirapina

("Nevirapine/adverse effects"[Mesh] OR "Nevirapine/adverse effects"[Title/Abstract])
AND ("Steven–Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis"[Title/Abstract] OR
"Steven–Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis"[Mesh] OR
"SJS/TEN"[Title/Abstract] OR "SJS/TEN"[Mesh]) AND
("polymorphisms"[Title/Abstract] OR "polymorphisms"[Mesh] OR
"pharmacogenetics"[Title/Abstract] OR "pharmacogenetics"[Mesh])

Argumento 7 – Atazanavir

("atazanavir "[Mesh] OR "atazanavir"[Title/Abstract]) AND ("bilirubin"[Title/Abstract]
OR "bilirubin"[Mesh] OR "hyperbilirubinemia"[Title/Abstract] OR "hyperbilirubinemia
"[Mesh]) AND ("UGT1A1*28"[Title/Abstract] OR "UGT1A1*28"[Mesh])

Apêndice 3: Contribuição de variáveis clínicas, epidemiológicas e genéticas sobre a dinâmica dos linfócitos T-CD4⁺ ao longo do tempo de acompanhamento.

1. Estatísticas univariadas para analisar a contribuição de variáveis clínicas e epidemiológicas sobre a dinâmica dos linfócitos T-CD4⁺ ao longo do tempo de acompanhamento.

Variáveis clínicas e epidemiológicas foram avaliadas individualmente utilizando um modelo longitudinal de efeito aleatório (Tabela 1).

Tabela 1: Análise univariada por modelo longitudinal de efeito aleatório para a contribuição de variáveis clínicas e epidemiológicas sobre a dinâmica de CD4⁺ ao longo do tempo de acompanhamento.

Variável		n (%)	Coeficiente	Ep Coef	GL	t	p
Sexo (n=291)	Feminino	126(43)	534,61	20,85	3058	25,64	0,0720
	Masculino	165(57)	-50,20	27,80	289	-1,81	
Idade ao diagnóstico (n=291)	Intercepto		615,16	44,88	3058	13,70	0,0011
	Idade (anos)	291(100)	-3,13	1,23	289	-2,54	
Idade ao início tratamento (n=291)	Intercepto		606,51	46,60	3058	13,02	0,0253
	Idade (anos)	291(100)	-2,81	1,25	289	-2,25	
Ancestralidade autodeclarada (n=223)	Amarela	3(1)	562,31	135,55	2389	4,15	0,9392*
	Branco	60(21)	-27,00	138,97	218	-0,19	
	Indígena	3(1)	-9,90	191,26	218	-0,05	
	Negro	35(12)	-64,07	141,27	218	-0,45	
Carga viral (n=291)	Intercepto		720,38	15,32	3057	47,02	<0,0001
	Carga viral log ₁₀ (cópias/mL)	291(100)	-83,52	2,76	3057	30,23	
Tempo de acompanhamento (n=291)	Intercepto		416,11	14,44	3057	28,82	<0,0001
	Tempo (dias)	291(100)	0,10	0,00	3057	24,52	
Inibidor de Protease (n=291)	Não	1398	498,27	14,87	2533	33,50	<0,0001
	Sim	555	105,87	15,06	2533	7,03	
Esquema Tenofovir+ Lamivudina+Efavirenz (n=291)	Não	1501	502,75	15,35	2533	32,76	<0,0001
	Sim	452	61,12	17,92	2533	3,41	
Tenofovir (n=291)	Não	1174	453,59	16,83	2533	26,96	<0,0001
	Sim	779	118,70	14,45	2533	8,22	
Efavirenz (n=291)	Não	759	586,53	16,82	2533	34,88	<0,0001
	Sim	1194	-113,81	14,78	2533	-7,70	

- n, número de indivíduos; Ep, erro padrão; GL, graus de liberdade

* Resultado de ANOVA do modelo ajustado

A Figura 1 ilustra a (A) dinâmica de CD4⁺ ao longo do tempo de acompanhamento, com um incremento de CD4⁺ mais rápido no primeiro ano e um platô por volta do quarto ano de acompanhamento. O uso de (D) TDF+3TC+EFZ, (E) Inibidores de Protease e (F) Tenofovir foram associados a um aumento significativo na média de CD4⁺ ao longo do tempo; enquanto do (G) Efavirenz foi associado à uma queda.

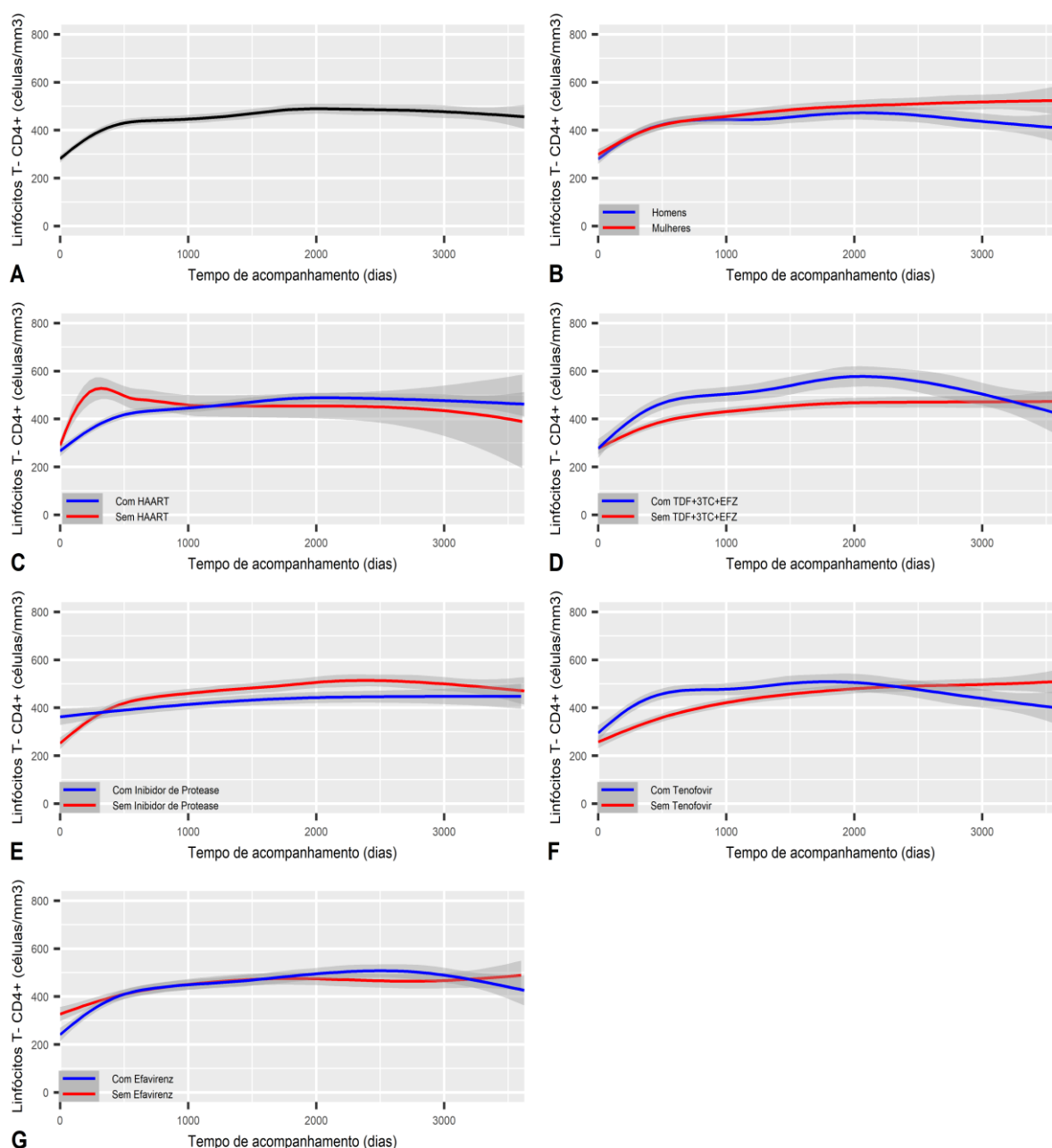


Figura 1: Análise da contribuição de variáveis clínicas e epidemiológicas sobre a contagem média de linfócitos T-CD4⁺ (células/mm³) ao longo de até 3.651 dias de acompanhamento. (A) Dinâmica de CD4⁺ ao longo do tempo de acompanhamento (n=291). A contagem média de CD4⁺ foi agrupada por (B) Sexo (Homens n=165/Mulheres n=126), uso de (C) TDF+3TC+EFZ (Com n=101/Sem n=190); (D) Inibidores de Protease (Com n=74/Sem n=217); (E) Tenofovir (Com n=206/Sem n=85) e (F) Efavirenz

(Com n=202/Sem n=89). Os valores de CD4⁺ no tempo zero correspondem às contagens basais de CD4⁺. As linhas azuis e vermelhas são as médias estimadas da contagem de CD4⁺ para cada fator e a região cinza é o intervalo de confiança de 95%.

2. Estatísticas univariadas para analisar a contribuição de variáveis genéticas sobre a dinâmica dos linfócitos T-CD4⁺ ao longo do tempo de acompanhamento.

Com o intuito de observar qual estrutura genotípica melhor explicaria a dinâmica de CD4⁺ ao longo do tempo de acompanhamento foram propostos os modelos dominância, recessividade, codominância, heterosigozidade e de efeito aditivo para cada SNP investigado. Como apresentado da Tabela 2, nenhum dos modelos criados para os quatro SNPs investigados exerceu influência significativa sobre o fenótipo em questão. Com base nos critérios preestabelecidos, o modelo de recessividade do alelo G do SNP CYP2B6 516G>T foi elegível para a estatística multivariada pois apresentou valor de $p \leq 0,2$.

Tabela 2: Análise univariada por modelo longitudinal de efeito aleatório para a contribuição de variáveis genéticas sobre a dinâmica de CD4⁺ ao longo do tempo de acompanhamento. Foram analisados os modelos genotípicos criados (dominância, recessividade, codominância, heterosigozidade e de efeito aditivo) para os SNPs selecionados.

Variante	Modelo	Grupo	Coefficiente	Ep Coef	GL	t	P
ABCB1 3435C>T (rs1045642)	Dominante C	C/C + C/T	482,24	14,61	2101	33,02	0,7500
		T/T	11,38	35,69	286	0,32	
	Recessivo C	C/T+ T/T	483,19	16,76	2101	28,82	0,9248
		C/C	2,61	27,63	286	0,09	
	Codominante	C/C	485,80	22,01	2101	22,08	0,9285
		C/T	-6,37	29,46	285	-0,22	
		T/T	7,84	39,35	285	0,20	
	Heterose	C/C + T/T	488,25	18,21	2101	26,81	0,7416
		C/T	-8,82	26,72	286	-0,33	
	Modelo aditivo C	2	485,80	22,01	2101	22,08	0,9285
1		-6,37	29,46	285	-0,22		
0		7,84	39,35	285	0,20		
CYP2B6 516G>T (rs3745274)	Dominante G	G/G + G/T	474,38	14,86	1954	31,93	0,1810
		T/T	48,40	41,52	264	1,17	
	Recessivo G	G/T+ T/T	481,69	18,87	1954	25,53	0,9301
		G/G	-2,45	27,93	264	-0,09	
	Codominante	G/G	479,24	20,57	1954	23,30	0,4799
		G/T	-10,22	29,80	263	-0,34	
		T/T	43,53	43,94	263	0,99	
	Heterose	G/G + T/T	488,78	18,17	1954	26,89	0,4752
		G/T	-19,76	28,20	264	-0,70	
	Modelo aditivo G	2	479,24	20,57	1954	23,30	0,4799

		1	-10,22	29,80	263	-0,34	
		0	43,53	43,94	263	0,99	
TNFα -308G>A (rs1800629)	Dominante G	G/G + G/A	482,11	13,33	2055	36,17	0,3545
		A/A	-117,09	126,25	278	-0,93	
	Recessivo G	G/A+ A/A	464,89	26,28	2055	17,69	0,4835
		G/G	21,35	30,44	278	0,70	
	Codominante	G/G	486,24	15,37	2055	31,63	0,5629
		G/A	-16,78	30,98	277	-0,54	
		A/A	-121,25	126,65	277	-0,96	
	Heterose	G/G + A/A	484,46	15,25	2055	31,76	0,6280
		G/A	-14,99	30,91	278	-0,49	
			2	486,24	15,37	2055	31,63
		1	-16,78	30,98	277	-0,54	0,5629
	Modelo aditivo G	0	-121,25	126,65	277	-0,96	
TNFα -238 G>A (rs361525)	Dominante G	G/G + G/A	483,89	13,46	2038	35,96	0,7711
		A/A	46,20	158,66	278	0,29	
	Recessivo G	G/A+ A/A	485,17	42,43	2038	11,43	0,9811
		G/G	-1,06	44,73	278	-0,02	
	Codominante	G/G	484,11	14,16	2038	34,19	0,9573
		G/A	-2,45	46,34	277	-0,05	
		A/A	45,98	159,01	277	0,29	
	Heterose	G/G + A/A	484,48	14,08	2038	34,41	0,9519
		G/A	-2,79	46,25	278	-0,06	
			2	484,11	14,16	2038	34,19
		1	-2,45	46,34	277	-0,05	0,9573
	Modelo aditivo G	0	45,98	159,01	277	0,29	

- n, número de indivíduos; Ep, erro padrão; GL, graus de liberdade

- p<0,2 considerado limite de corte para a análise multivariada

Abaixo, os gráficos para cada modelo genotípico proposto para cada SNP genotipado.

A dinâmica de CD4⁺ não foi diferente entre os genótipos ou grupos genotípicos para cada um dos modelos: (A) codominância, (B) dominância do alelo C e (C) recessividade do alelo C, do SNP ABCB1 3435C>T (rs1045642) (Figura 2).

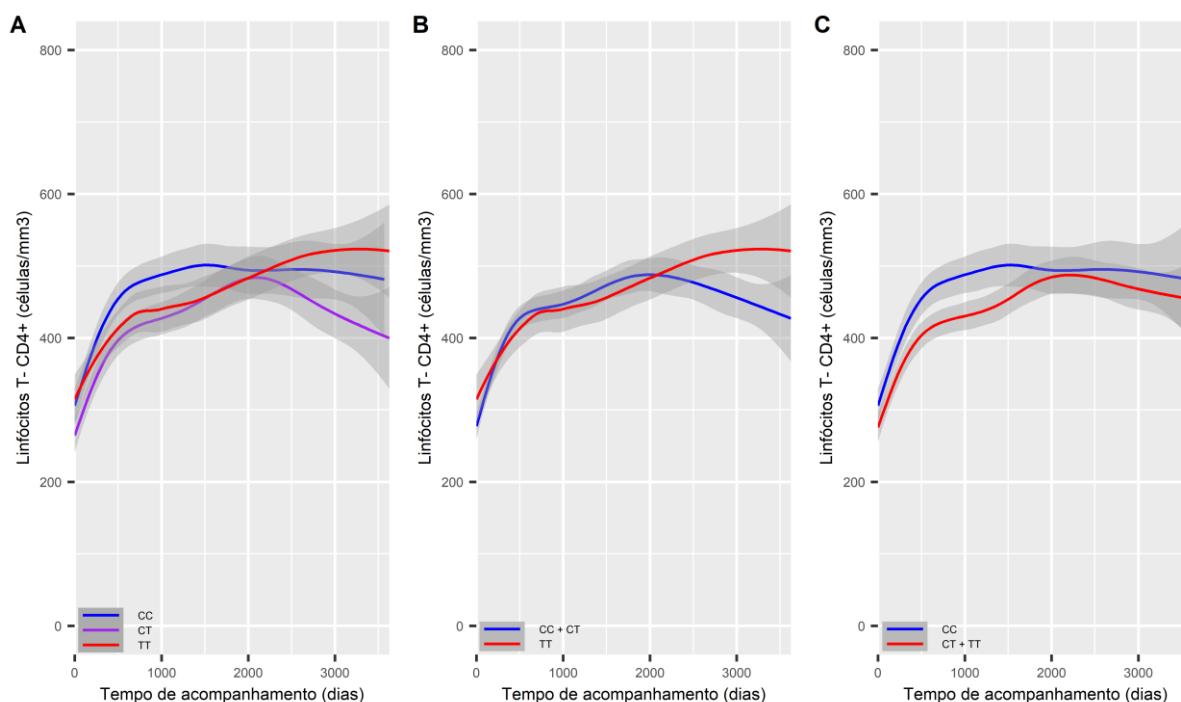


Figura 2: Análise da contribuição dos diferentes modelos genotípicos para o SNP ABCB1 3435C>T, sobre a contagem média de linfócitos T-CD4⁺ (células/mm³) ao longo de até 3.651 dias de acompanhamento. Os pacientes foram agrupados pela variante assumindo (A) Codominância (CC n=108, CT n=132, TT n=48); (B) Dominância do alelo C (CC+CT n=240, TT n=48) e (C) Recessividade do alelo C (CC n=108, CT+TT n=180). Os valores de CD4⁺ no tempo zero correspondem às contagens basais de CD4⁺. As linhas azuis, vermelhas e roxa são as médias estimadas da contagem de CD4⁺ para cada fator e a região cinza é o intervalo de confiança de 95%.

A dinâmica de CD4⁺ não foi diferente entre os genótipos ou grupos genotípicos para cada um dos modelos: (A) codominância, (B) dominância do alelo G e (C) recessividade do alelo G, do SNP CYP2B6 516G>T (rs3745274) (Figura 3).

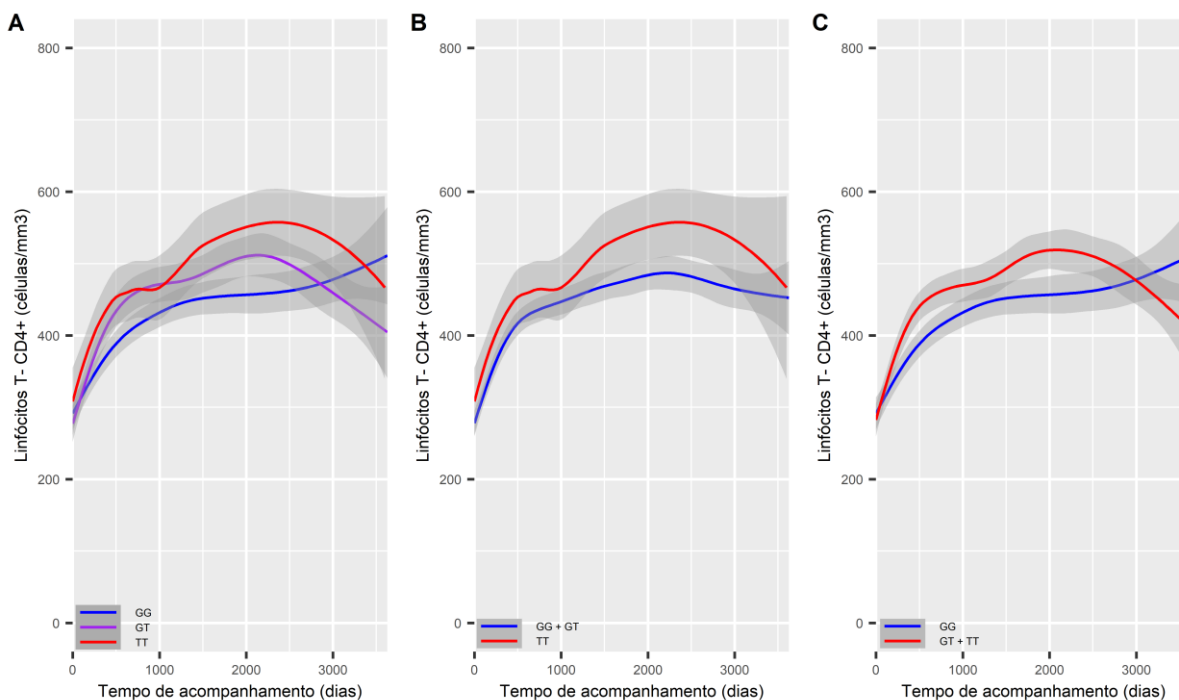


Figura 3: Análise da contribuição dos diferentes modelos genotípicos para o SNP CYP2B6 516G>T, sobre a contagem média de linfócitos T-CD4⁺ (células/mm³) ao longo de até 3.651 dias de acompanhamento. Os pacientes foram agrupados pela variante assumindo (A) Codominância (GG n=122, GT n=110, TT n=34); (B) Dominância do alelo C (GG+GT n=232, TT n=34) e (C) Recessividade do alelo C (GG n=122, GT+TT n=144). Os valores de CD4⁺ no tempo zero correspondem às contagens basais de CD4⁺. As linhas azuis, vermelhas e roxa são as médias estimadas da contagem de CD4⁺ para cada fator e a região cinza é o intervalo de confiança de 95%.

A dinâmica de $CD4^+$ não foi diferente entre os genótipos ou grupos genotípicos para cada um dos modelos: (A) codominância, (B) dominância do alelo G e (C) recessividade do alelo G, do SNP TNF- α -308G>A (rs1800629) (Figura 4).

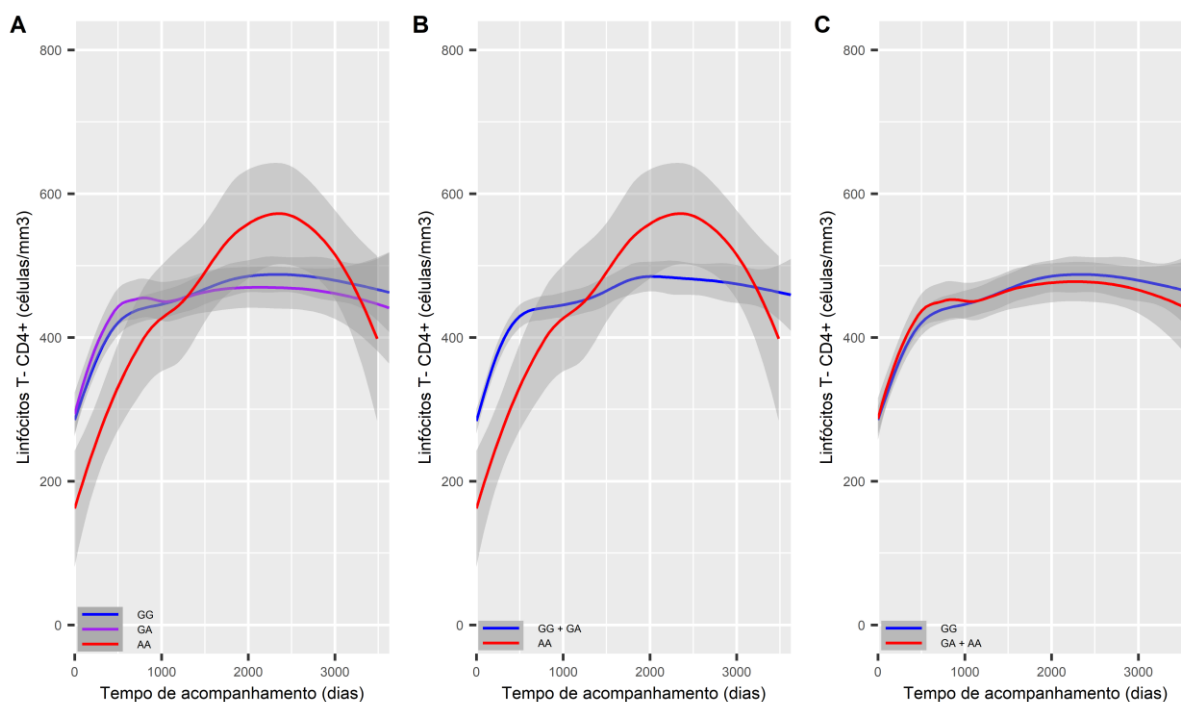


Figura 4: Análise da contribuição dos diferentes modelos genotípicos para o SNP TNF α -308G>A, sobre a contagem média de linfócitos T-CD4 $^+$ (células/mm 3) ao longo de até 3.651 dias de acompanhamento. Os pacientes foram agrupados pela variante assumindo (A) Codominância (GG n=209, GA n=68, AA n=3); (B) Dominância do alelo C (GG+GA n=277, AA n=3) e (C) Recessividade do alelo C (GG n=209, GA+AA n=71). Os valores de CD4 $^+$ no tempo zero correspondem às contagens basais de CD4 $^+$. As linhas azuis, vermelhas e roxa são as médias estimadas da contagem de CD4 $^+$ para cada fator e a região cinza é o intervalo de confiança de 95%.

A dinâmica de CD4⁺ não foi diferente entre os genótipos ou grupos genotípicos para cada um dos modelos: (A) codominância, (B) dominância do alelo G e (C) recessividade do alelo G, do SNP TNF- α -238G>A (rs361525). Nota-se que o intervalo de confiança do genótipo AA não foi estimado porque só havia um indivíduo (Figura 5).

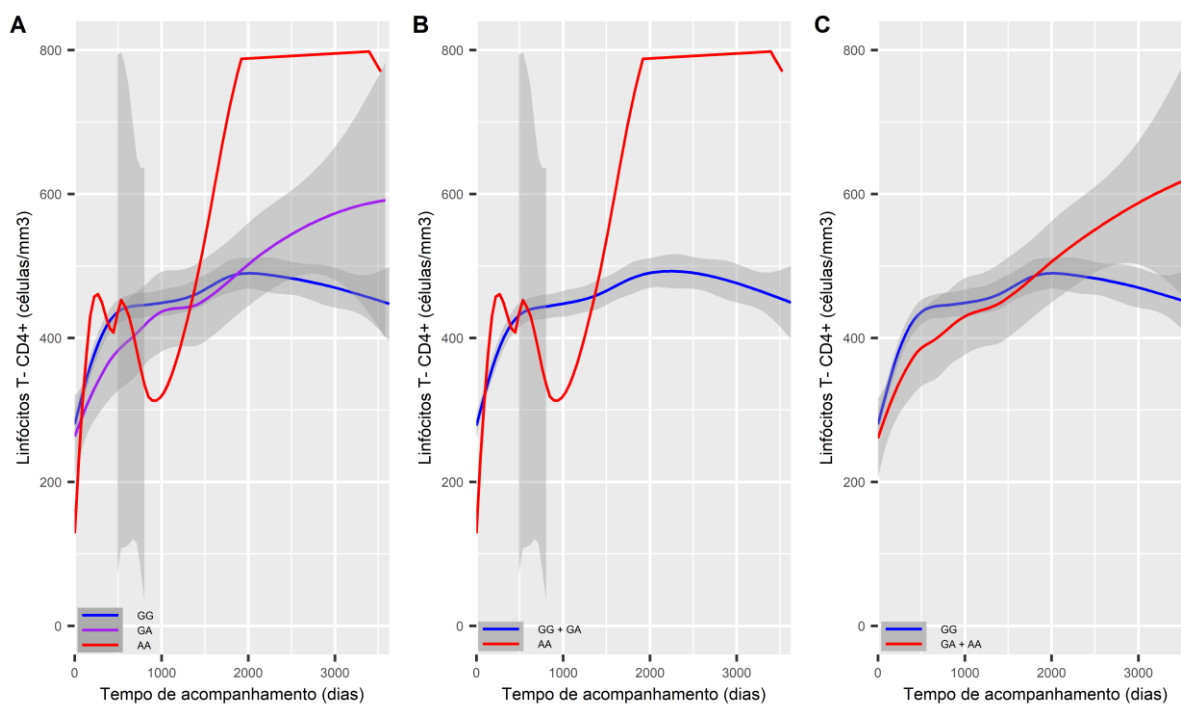


Figura 5: Análise da contribuição dos diferentes modelos genotípicos para o SNP TNF α -238G>A, sobre a contagem média de linfócitos T-CD4⁺ (células/mm³) ao longo de até 3.651 dias de acompanhamento. Os pacientes foram agrupados pela variante assumindo (A) Codominância (GG n=252, GA n=26, AA n=2); (B) Dominância do alelo C (GG+GA n=278, AA n=2) e (C) Recessividade do alelo C (GG n=252, GA+AA n=28). Os valores de CD4⁺ no tempo zero correspondem às contagens basais de CD4⁺. As linhas azuis, vermelhas e roxa são as médias estimadas da contagem de CD4⁺ para cada fator e a região cinza é o intervalo de confiança de 95%.

3. Análise estatística multivariada

Após as análises acima, implementou-se um modelo longitudinal de efeito aleatório, ajustado para todas as variáveis com valor de $p < 0,2$. Embora a variável Inibidor de protease esteja associada ao fenótipo na análise univariada, a mesma foi administrativamente excluída da análise multivariada. Assim, optou-se por manter a variável Efavirez, uma vez que ambas não puderam permanecer no mesmo modelo

por serem, na amostra estudada, praticamente excludentes, ocasionando em erro. O resultado desse modelo encontra-se na Tabela 3, no qual apenas as variáveis listadas foram significativamente associadas ao processo de recuperação imune ao longo do tempo de acompanhamento ($p < 0,05$).

Tabela 3: Análise multivariada por modelo longitudinal de efeito aleatório para a contribuição de variáveis clínicas e epidemiológicas sobre a dinâmica de CD4⁺ ao longo do tempo de acompanhamento.

Variável	Coefficiente	Ep Coef	GL	t	p
Intercepto	725,45	48,01	2530	15,11	<0,001
Tempo de acompanhamento (dias)	0,07	0,00	2530	15,98	<0,001
Idade ao início do acompanhamento (anos)	-2,90	1,24	287	-2,34	0,0198
Carga viral log ₁₀ (cópias/mL)	-65,16	3,52	2530	-18,50	<0,001
TDF+3TC+EFZ	48,77	17,94	2530	2,72	0,0066

Com o intuito de propor um modelo que incluísse somente variáveis presentes no momento da admissão do paciente, foi gerado um novo modelo sem as variáveis que são sabidamente influenciadoras do desfecho, que são a carga viral e o tempo de acompanhamento (Tabela 4).

Tabela 4: Análise multivariada por modelo longitudinal de efeito aleatório para a contribuição de variáveis clínicas e epidemiológicas sobre a dinâmica de CD4⁺ ao longo do tempo de acompanhamento.

Variável	Coefficiente	Ep Coef	GL	t	p
Intercepto	568,39	25,20	2531	22,56	<0,001
Homens	-63,60	29,61	287	-2,15	0,0325
TDF+3TC+EFZ	84,56	27,11	2531	3,12	0,0018
Tenofovir	68,33	20,00	2531	3,42	0,0006
Efavirenz	-135,56	18,38	2531	-7,37	<0,001

Apêndice 4: Esquemas terapêuticos utilizados

Tabela S1. Esquemas terapêuticos utilizados durante o período de avaliação no ambulatório e número de observações.

Esquemas terapêuticos	Número de observações
AZT/3TC/EFV	959
TDF/3TC/EFV	755
AZT/3TC/LPV/RTV	319
TDF/3TC/DTG	262
TDF/3TC/ATV/RTV	232
AZT/3TC/NVP	182
AZT/3TC/ATV/RTV	105
TDF/3TC/LPV/RTV	72
AZT/3TC/ATV	38
TDF/DDI/LPV/RTV	31
AZT/DDI/NVP	29
AZT/3TC/LPV	26
D4T/3TC/EFV	26
ABC/DDI/ATV/RTV	21
AZT/DDI/LPV	21
TDF/3TC/AZT/LPV/RTV	19
TDF/DDI/ATV/RTV	15
AZT/LPV/SQV/RTV	11
TDF/3TC/ATV	11
TDF/3TC/EFV/DRV/RTV	11
AZT/3TC/TDF/ATV/RTV	10
AZT/3TC/NFV	8
TDF/3TC/RAL	8
TDF/LPV/RTV/RAL	8
ABC/3TC/EFV	7
ABC/DDI/LPV/RTV	7
AZT/3TC/ATV/RTV/DTG	7
AZT/NFV	7
TDF/3TC/LPV/RTV/SQV	7
AZT/3TC	6
TDF/3TC/EFV/DRV	6
TDF/ATV/RTV/DTG	6
ABC/3TC/DDI/LPV/RTV	5
TDF/ATV	5
TDF/DRV/RTV/DTG	5
TDF/EFV/ATV/RTV	5
D4T/3TC/NFV	4
DTG/3TC/ATV/RTV	4
TDF/LPV/DTG	4
ABC/3TC/DDI/ATV/RTV	3

AZT/3TC/DTG	3
DRV/RAL/RTV	3
TDF/DDI/EFV	3
ABC/3TC/ATV/RTV	2
ABC/DDI/EFV	2
DDI/3TC/ATV/RTV	2
TDF/3TC/ATV/RTV/DTG	2
TDF/DRV/RTV/RAL	2
AZT/DDI/IDV	1
D4T/3TC/IDV	1
TDF/3TC/AZT	1
TDF/3TC/LPV	1
TDF/LPV/RTV/DTG	1
Sem HAART	529
<hr/> Total = 3820	

Apêndice 5: Artigo

Genetic and non-genetic predictors of immune recovery in HIV/AIDS patients under HAART: a naturalistic pharmacogenetic study in Barreiras, Brazil.

Luciana C.O. Cândido^{a,b,c}, João L.F. Araújo^{a,b}, Juliane V.F. Salomão^{a,b,c}, Kaio H. Santana^c, Rita C. Silva^d, Diego M. Bonfim^{a,b}, Luciano A. Reale^{c,d}, Renan P. Souza^{a,b,*}

^aGrupo de Pesquisa em Bioestatística e Epidemiologia Molecular; Laboratório de Biologia Integrativa; Departamento de Genética, Ecologia e Evolução; Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, Belo Horizonte, Brazil

^bPrograma de Pós-graduação em Genética, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

^cCentro das Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Oeste da Bahia, Bahia, Brazil

^dSpecialized Edgard Pita Ambulatory Service, Barreiras, Bahia, Brazil

*Correspondence: Renan Pedra de Souza, Departamento de Genética, Ecologia e Evolução; Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais UFMG, Av Antônio Carlos, 6627, Belo Horizonte, 31270901, Brazil. Tel: +553134092570, E-mail: renanrps@yahoo.com.br

ABSTRACT

The clinical management of patients infected with the human immunodeficiency virus (HIV) is often challenging. The response to highly active antiretroviral therapy (HAART) varies considerably and approximately 30% of the patients do not achieve an optimal CD4 T-cell lymphocytes recovery. In this sense, a pharmacogenetic association study was conducted with the objective of investigating the contribution of genetic, clinical and epidemiological variables on immune recovery kinetics in HIV infected patients under HAART. Two hundred ninety-one patients were enrolled in this study. DNA extraction was performed followed by ABCB1 3435C>T, CYP2B6 516G>T, TNF- α -308G>A and TNF- α -238G>A genotyping. It was found that 53% of patients were late for care (CD4 \leq 350 cells/mm³). Among those who started HAART with CD4 \leq 200, 350 and 500 cells/mm³, 58, 45 and 38%, respectively, did not recover values above 500 cells/mm³. Patients that were diagnosed at an older age had lower mean CD4 gain during HAART. The use of the TDF+3TC+EFZ regimen, protease inhibitors and tenofovir were associated with increased CD4. No association of polymorphisms with immune reconstitution was found. These findings highlight factors such as age at diagnosis and drugs associated with CD4 recovery during HAART. They indicate that late introduction to care continues to be a concern in Brazil and corroborates the existence of benefits for the immediate start of HAART after the diagnosis.

INTRODUCTION

In 1996, Brazil became the first developing country to guarantee free universal access to Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART), positively impacting the population's expectations and quality of life as well as reducing the risk of transmission^{1,2}. Such benefits are a result of the significant decline in viral load and the recovery process T-CD4 lymphocytes following HAART initiation¹. The first six months of the process is quick and, in the following months, consists of a monthly gain although the gain decreases with each passing month³⁻⁶. This accounts for an absolute value of 350 to 500 cells at the end of a 4 to 7-year period^{3,6}. However, 15–40% of the patients do not achieve optimal CD4 recovery despite viral suppression, a condition defined as immunological recovery failure. Patients are then exposed to the risk of disease progression, morbidity, and death^{6, 7}. The mechanisms and factors related to immunological failure are not understood well; but so far it has been described as a multifactorial condition³, including low CD4⁷ and older age⁷ at the beginning of treatment, being of the male gender^{5,7}, apoptosis of CD4⁸, and genetic factors⁹.

The individual responses to HAART vary greatly and studies suggest that the presence of certain single nucleotide polymorphisms (SNPs) may be, in part, responsible for this variation. Each SNP represents the point mutation of a single nucleotide, which can result in functional consequences that are important factors for gene activity. The literature shows that SNPs in genes involved in drug metabolism, such as CYP2B6¹⁰, ABCB1⁹ and in the production of cytokines¹¹, can partially explain the variability in the kinetics of immunological recovery during HAART. It is known that the TT genotype of SNP CYP2B6 516G> T is associated with low expression of the CYP2B6¹² enzyme and, thus, to greater exposure to efavirenz¹³. Although CYP2B6 516G> T appears to influence responses to therapy, there is still no consensus on its contribution to CD4 kinetics during therapy^{10,14,15}. Another important SNP that also changes the bioavailability of drugs is ABCB1 3435C>T (rs1045642). Fellay *et al.*⁹ observed that carriers of the TT genotype had a higher CD4 count during HAART than individuals with CC and CT genotypes¹⁶. It is possible that the association of this genotype with the lowest expression of P-glycoprotein¹⁷ partially explains this find. In addition, SNPs in genes coding for TNF- α may also be associated with immunological recovery failure. Carriers of genotype AA+AG of TNF- α -308G> A (rs1800629) showed an increase in TNF- α activity and in the level of CD4 apoptosis¹⁸, suggesting an association of the A allele with the progression of several diseases.

Given this, a pharmacogenetic naturalistic association study was proposed, like other studies¹⁶, which also evaluated individuals under treatment with multiple drugs, aiming to elucidate the role of genetics in that context. Given the inter-individual variability in the outcome of HAART, understanding about the markers of the immune response could be beneficial to the clinical management of patients through predictive tools. However, this area has been given little research and the outcomes of that research are contradictory. Given the above and considering that low T-CD4 lymphocyte levels are the main parameter for progression to AIDS, the goal of the study was to investigate the contribution of the ABCB1 SNPs 3435C> T, CYP2B6 516G> T, TNF- α -308G> A and TNF- α -238G> A polymorphisms and clinical and epidemiological variables to the kinetics of immune recovery in HIV-infected patients.

METHODS

This study was carried out according to the recommendations of STREGA¹⁹.

Study design and participants

Patients with confirmed HIV infection, ages 18 and older, and receiving HAART were included in a retrospective observational study. Peripheral blood samples were collected from 291 HIV-1-infected persons attending the Specialized Edgard Pita Ambulatory Service of the Unified Health System, in Barreiras, Bahia, Brazil, from January to July of 2018. The city of Barreiras, with a population of 156,975, is the foremost urban center in its entire region, with the third highest Human Development Index in the state of Bahia, 0.721. The study was approved by the research ethics committee and all the participants signed an information consent form (CAAE: 67848517.9.0000.8060).

Genotyping

Genomic DNA extraction was performed according to adaptations of the protocol developed by Miller *et al.* and stored at 4°C. Genotyping for ABCB1 3435C>T (rs1045642), CYP2B6 516G>T (rs3745274), TNF- α -308G>A (rs1800629) and TNF- α -238G>A (rs361525) were determined by real-time PCR with TaqMan probes, using the ABI 7500 platform (Applied Biosystems), and the protocol: 95°C for 10 min, followed by 40 cycles of 95°C for 15 s and 60°C for 1 min. Genotyping was performed blinded from clinical data and was repeated in 10% of the samples as a quality control procedure.

Variables and definitions

The main outcome of the analysis was the mean CD4 count during the follow up, which was used to analyze the immunological recovery process during HAART. The baseline CD4 count was defined as the CD4 count immediately before HAART began. The duration of follow up was defined as the time interval between the date of baseline CD4 count and the date of the latest CD4 count, considering a maximum period of ten years. At the ambulatory follow-up was done about every six months; time period in which the medications that the individual was using were recorded. Therefore, the total number of observations was 3,820 and refers to 291 recruited patients, and all the regimens used are shown in Table S1. This study investigated whether clinical, epidemiological (viral load, baseline CD4 count, treatment, sex, age, ancestry) and genetics variables are associated with the immunological recovery process. For each SNP, different genotypic models (codominance, dominance, recessivity, additivity and heterozygosity) were proposed to verify which one would best explain the immunological recovery process during HAART.

Statistical analyses

The individuals' characteristics were described using mean, median and standard deviation for continuous variables and as absolute and relative frequency for categorical data. Hardy–Weinberg equilibrium was calculated to evaluate the genotype frequency distribution by the chi-square test implemented in the SNPassoc package of the R program. To analyze the immunological recovery process, a mixed-effect linear model (lme function - nlme package of program R) was implemented, which explored all CD4 values of each individual during the analyzed period. This same model was implemented to analyze the contribution of each clinical, epidemiological, and genetic

variable on CD4 dynamics. Viral load was used on the logarithmic scale. A multivariate mixed-effect linear model – initially adjusted with all variables that reached a p value lower than 0.2 in the univariate models - was used to predict the mean of CD4 counts during HAART. All calculations were performed using software R for Windows (version 3.5), and the associations were considered nominally significant at p value < 0.05.

RESULTS

Description of the population

Of the 291 patients included in the analysis, 165 (57%) were male, the average age for treatment initiation was 36 years old. The mean count for CD4 at diagnosis, baseline CD4 count, and the count at the end of the study were 365, 289 and 640 cells/mm³, respectively. It was found that 43 and 66% of the individuals presented CD4 counts of ≤ 350 cells/mm³ at diagnosis and at the beginning of treatment, respectively (Tab 1). Fifty-three different therapeutic regimens were used during the evaluation period at the ambulatory (Tab S1). The most common regimen recorded was zidovudine, lamivudine and efavirenz (AZT+3TC+EFZ) (n = 959) followed by tenofovir, lamivudine and efavirenz regimen (TDF+3TC+EFZ) (n = 755).

Frequencies of genetic polymorphisms

The most frequent CYP2B6 516G>T genotype was homozygous GG (41.9%). Regarding ABCB1 3435C>T, the heterozygous genotype CT was the most frequent, observed in 45.4% of the HIV-1 carriers. The wild-type (GG) genotype of TNF α -308G>A and TNF α -238 G>A was observed in 71.5% and 86.6% of individuals. All polymorphisms were found to be in Hardy Weinberg equilibrium and the allele and genotype frequencies of the SNPs analyzed in this study are shown in Table 2.

Predicted CD4 count recovery based on baseline CD4 count

Table 3 shows the magnitude of CD4 recovery, after approximately 6 years of treatment, based on baseline CD4 count. Among individuals with baseline CD4 counts ≤ 200 cells/mm³ only 42% reached values ≥ 500 cells/mm³ while 93% of the subjects with baseline CD4 counts > 500 cells/mm³ remained with CD4 count ≥ 500 cells/mm³.

Clinical, epidemiological and genetic variables and the impact on CD4 count recovery during HAART

Overall, the CD4 counts increased rapidly from the baseline count for 12 months post HAART initiation. Beyond that, there were smaller but steady increases in the average counts up to the fourth-year post initiation. A plateau was observed around the fourth year of treatment (Fig 1- A). The association of epidemiological variables with the CD4 count recovery showed that gender was a marginally significant variable (Tab 4; Fig 1- B) and older individuals had a lower count (Tab 4). TDF+3TC+EFZ, regimens that included protease inhibitors and regimens that included tenofovir were associated with a significant increase in the mean CD4 over time. However the use regimens including efavirenz was associated with lower mean CD4 count when compared to other regimens implying that efavirenz association with other drugs were not as successful as TDF+3TC+EFZ (Tab 4; Fig 1- C, D, E and F, respectively). The immunological recovery kinetics was similar among different genotypic models proposed for each SNP (Tab S2). Only the dominance model G CYP2B6 516G>T (p value < 0.2) was considered for multivariate analysis (Tab 4; Fig 2).

Multivariate analysis

A multivariate mixed-effects linear model was initially adjusted including: treatment time, gender, age at diagnosis, age at start of treatment, viral load (\log_{10}), TDF+3TC+EFZ, regimens including tenofovir, regimens including efavirenz and CYP2B6 516G>T to predict the mean CD4 count during HAART. Our results indicate that treatment time was associated with higher mean CD4 count while other factors were associated with lower mean CD4 count (being older, having a higher viral load and taking regimens including efavirenz) (Tab 5).

DISCUSSION

Although Brazil is highlighted country on the world stage for policies aimed at HIV/AIDS based on prevention, early diagnosis, and free treatment, many patients are still showing up late for care. The present study found that approximately 53% and 33% of the patients treated fit into the category of late presenters ($CD4 \leq 350$ cells/mm³) and presenters with advanced HIV disease ($CD4 \leq 200$ cells/mm³), respectively, according to the definitions proposed by the “European Later Presenter Consensus Working group”²⁰. These results were like other studies²¹, where more than 50% of all people living with HIV/AIDS are diagnosed late. In the Federative Units in Brazil ranking, 100% of them had an average CD4 at diagnosis below 300 cells/mm³²². This data is significantly high, especially in Brazil, which has one of the best HIV/AIDS programs in the world.

The data mentioned above is worrisome, since evidence from previous studies point to a correlation between the baseline CD4 count and magnitude of its recovery during HAART^{4,6,7,18,23}. In exploring this relationship, our study found that of the individuals who started therapy with $CD4 \leq 200$, 350 and 500 cells/mm³, 58%, 45%, and 38%, respectively, do not recover values above 500 cells/mm³. This result is consistent with other studies, in which individuals who started treatment with $CD4 < 350$ and < 500 ²⁴ cells/mm³ showed immunological recovery failure after years of treatment^{4,5}; according to Kelley *et al.*⁶, it is unlikely that they will reach the optimal immune recovery. Thus, our results are consistent with the literature that states the need for the immune system to be at least partially preserved so that the immune reconstitution is effective. It's possible that the long period of infection without treatment has promoted the exhaustion of the thymus²³. However, it is important to highlight that the laboratory findings express that most patients in this study obtained good clinical evolution, with 67% reaching a value greater than 500 cells/mm³. Reaching a CD4 count above 500 cells/mm³ is closely connected with making it possible for PLWHA to achieve the same mortality rates as the general population²⁵. Such benefits would not be restricted to the patient's health but would also allow for a long-term reduction in costs related to AIDS management and its comorbidities²⁵. These benefits would contribute to achieving the target of ending the epidemic by 2030 as well²⁶.

The analysis of the dynamics of CD4 recovery under HAART and the associated factors was performed using a mixed-effect linear model. We observed that the CD4 recovery rate was faster in the first year of treatment, followed by gradual increases until reaching a plateau in the fourth year of treatment. These results are similar to other studies^{4,6}. According to Moore *et al.*⁴, regardless of CD4 baseline, values tend to

increase up to approximately the fourth year of treatment. The present study registered that 58% of immunosuppressed patients (≤ 200 cells/mm³) at the beginning of therapy, on average, did not reach 500 cells/mm³ at the end of 6 years of treatment. Considering this period, it is possible to infer that most have already reached the plateau and will not be able to achieve an adequate immune response⁴, even if the effective therapy lasts 10 years⁶ and other drugs are introduced²⁵.

Considering some risk factors, the univariate analysis revealed a trend of association between the male gender and immunological recovery failure. Some studies have indicated this association^{5,7} and propose that behavioral factors, such as the tendency of men to delay their exposure to treatment²⁷, which may compromise their thymic function due to the advancement of the infection²⁸, may explain gender differences. However, this has not been observed in other studies^{9,24}. Some studies have shown that age can be a predictor of immunological failure during therapy^{4,7}, and our study is consistent with these findings. It is likely that the diminished thymus function, with advancing age, may be partly responsible for this^{23,29}. This aspect is relevant given the growing number of patients starting antiretroviral treatment in old age or reaching advanced age during treatment due to increased life expectancy.

Another important contribution of this study is the indication of the association between immunological recovery and treatment with antiretrovirals. According to the literature, the therapeutic regimen used can impact immune recovery, mainly by the development of drug toxicity or resistance³. In the multivariate analysis, efavirenz has been associated with a decrease in CD4 count. In analyzing this outcome, it was noted that the majority of the patients who used Efavirenz did so outside the first-line regimen. They were probably individuals who did not respond to the initial regimen and had difficulty controlling viremia or other complications related to HIV infection. It is also possible that, due to its wide long-term use in the market, there is an influence of viral resistance.

Considering the analysis of the genetic association, it is pertinent to highlight that the population investigated in this study is highly mixed, characterized mainly by the ethnic mix between browns (61.5%), white colonizers, represented mainly by European descendants (26.9%) and blacks (9.7%)¹. It is known that the genetic background influences the frequency of variants in genes involved in the response to therapy. Therefore, when compared with the literature, ethnic differences between studies may explain the differences observed in the frequencies of the investigated SNPs. For example, we found a frequency of 24.9% for the T allele of CYP2B6 516G>T, while in other studies it was approximately 35%^{10,31}. The analyses did not indicate an association between CYP2B6 516G>T SNP and immune recovery during HAART, consistent with other findings^{32,33}. It was believed that since the presence of the TT genotype may decrease the enzyme production in order to increase exposure to efavirenz^{12,13}, it would be associated with immunological recovery failure due to the occurrence of adverse effects and abandonment of therapy. However, the results concerning this polymorphism and its effect on CD4 restoration during HAART are controversial and still unclear. Queiroz *et al.*¹⁰ found that patients with TT genotype showed a lower CD4 count when compared to the others. Paradoxically, other studies have indicated that the TT genotype was associated with better recovery of CD4^{14,15} and the presence of the G allele is associated with a 70% increase in the risk of immunological failure².

We also explored the SNP ABCB1 3435C>T since the TT genotype is associated with a significant reduction in P-glycoprotein expression duodenal compared to the CC³⁴ genotype. This would allow greater bioavailability of medicines, and therefore, a better immune recovery³³. Fellay *et al.*⁹ observed an association between the TT genotype and the immunological recovery to HAART when compared to CC and CT. The authors suggested that the immunological benefit observed was due to low expression of P-glycoprotein in cells susceptible to HIV-1 infection and lymphocytes^{17,35}, which allowed greater penetration of antiretrovirals. However, our findings corroborate other previous observations^{33,36,37} that showed no association between the SNP ABCB1 3435C>T and the outcome analyzed. Several studies have investigated the contribution of variants in genes that code for cytokines¹¹, since high levels of TNF- α promote a high level of immune activation, inducing apoptosis in CD4 cells^{18,38}. Records point out that TNF- α -308G>A SNP is associated with high transcriptional activity, suggesting the association of the A allele with the progression of diseases³⁹. However, although the aforementioned studies suggest that TNF- α is a mediator of CD4 loss, our results for TNF- α -308G>A and -238G>A SNPs and their effects on immune recovery during HAART are still unclear, similar to other findings^{40,41}. It is possible that the extremely low frequency of allele A has affected the power to detect some significant differences between genotypes.

Our study had some important strengths. First, the follow-up was approximately 6 years, a sufficient period to analyze the immune recovery process. Second, the guidelines on the frequency of monitoring the CD4 count have changed substantially in the past decade; the lack of regularity in attending consultations and the differences in the duration of the follow-up impacted the number of values of CD4 among individuals. However, the mixed-effect linear model implemented is robust and flexible enough to take these conditions into account. Third, the Brazilian population, especially the population of Western Bahia, is underrepresented in genomic research. By increasing the representativeness of this population, this study contributes to improving the understanding the consequences caused by genetic variation, especially about response to treatment of infectious diseases. Studying underrepresented populations can identify the broader relevance of a finding and ensure that benefits of pharmacogenetics are not the privileges of only a few⁴². In contrast, this study faced the limitations imposed by a retrospective nature. Even because it is a naturalistic study, there was caution in attributing some outcome to a specific drug, as the patients were exposed to multiple drug therapy. Finally, the sample size may not have been sufficient to achieve statistical significance for the SNPs rs1800629 and TNF- α rs361525, due to the very low frequency of the variants in the studied population.

This study contributed with important implications to clinical policy and practice. Despite the free dispensation of antiretrovirals and the media campaigns, the proportion of patients who start treatment late was high. It is essential that more effective strategies be implemented, as late diagnosis continues to undermine the impact of treatment. In this context, this study supports the existence of benefits for immediate initiation of HAART after diagnosis since once having reached a 500 cells/mm³ CD4 value has a significant impact on the quality of life and life expectancy. Given the importance of genetic markers such as predictive tools in the context of HAART and considering the lack of consensus in the literature, replication studies are needed, with greater sample size and prospective nature. Finally, it is essential that

the efforts to increase the representation of diverse populations continue in the genomics area so that access to precision medicine is not unequal.

Acknowledgements

Authors would like to thank Prof. Maria Raquel Carvalho, Prof. Evanguedes Kalopothakis and Prof. Vasco Azevedo for their methodological support and funding agencies CNPq (310627/2018-4), CAPES and FAPEMIG (APQ-03299-18)

Conflicts of interest

None

REFERENCES

1. Trickey A, *et al.* Survival of HIV-positive patients starting antiretroviral therapy between 1996 and 2013: a collaborative analysis of cohort studies. *The lancet HIV* 2017; 4(8), e349-e356.
2. Marins JRP, *et al.* Dramatic improvement in survival among adult Brazilian AIDS patients. *Aids* 2003; 17(11), 1675-1682.
3. Corbeau P, Reynes J. Immune reconstitution under antiretroviral therapy: the new challenge in HIV-1 infection. *Blood* 2011; 117(21), 5582-5590.
4. Moore RD, Keruly JC. CD4+ cell count 6 years after commencement of highly active antiretroviral therapy in persons with sustained virologic suppression. *Clinical infectious diseases* 2007; 44(3), 441-446.
5. Kufa T, *et al.* CD4 count recovery and associated factors among individuals enrolled in the South African antiretroviral therapy programme: An analysis of national laboratory based data. *PloS one* 2019; 14(5), e0217742.
6. Kelley CF, *et al.* Incomplete peripheral CD4+ cell count restoration in HIV-infected patients receiving long-term antiretroviral treatment. *Clinical Infectious Diseases* 2009; 48(6), 787-794.
7. Kroeze S, *et al.* Suboptimal immune recovery during antiretroviral therapy with sustained HIV suppression in sub-Saharan Africa. *Aids* 2018; 32(8), 1043-1051.
8. Lu J, *et al.* Changes in peripheral blood inflammatory factors (TNF- α and IL-6) and intestinal flora in AIDS and HIV-positive individuals. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B* 2019; 20(10), 793-802.
9. Fellay J, *et al.* Response to antiretroviral treatment in HIV-1-infected individuals with allelic variants of the multidrug resistance transporter 1: a pharmacogenetics study. *The Lancet* 2002; 359(9300), 30-36.
10. Queiroz MAF, *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* 2017; 55, 4-10.
11. Haas DW, *et al.* Immunogenetics of CD4 lymphocyte count recovery during antiretroviral therapy: An AIDS Clinical Trials Group study. *The Journal of infectious diseases* 2006; 194(8), 1098-1107.
12. Hofmann MH, *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).

13. Rotger M, *et al.* Swiss HIV cohort study: Influence of CYP2B6 polymorphism on plasma and intracellular concentrations and toxicity of efavirenz and nevirapine in HIV-infected patients. *Pharmacogenet Genomics* 2005; 15(1), 1-5.

14. Sarfo FS, *et al.* Pharmacogenetic associations with plasma efavirenz concentrations and clinical correlates in a retrospective cohort of Ghanaian HIV-infected patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2014; 69(2), 491-499.

15. Habtewold A, *et al.* Long-term effect of efavirenz autoinduction on plasma/peripheral blood mononuclear cell drug exposure and CD4 count is influenced by UGT2B7 and CYP2B6 genotypes among HIV patients. *Journal of antimicrobial chemotherapy* 2011; 66(10), 2350-2361.

16. Zhu P, *et al.* ABCB1 variation and treatment response in AIDS patients: initial results of the Henan cohort. *PloS one* 2013; 8(1), e55197.

17. Hitzl M, *et al.* The C3435T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of the P-glycoprotein substrate rhodamine 123 from CD56+ natural killer cells. *Pharmacogenetics and Genomics* 2001; 11(4), 293-298.

18. Negredo E, *et al.* Nadir CD4 T cell count as predictor and high CD4 T cell intrinsic apoptosis as final mechanism of poor CD4 T cell recovery in virologically suppressed HIV-infected patients: clinical implications. *Clinical infectious diseases* 2010; 50(9), 1300-1308.

19. Little J, *et al.* STrengthening the REporting of Genetic Association Studies (STREGA)—an extension of the STROBE statement. *Genetic Epidemiology: The Official Publication of the International Genetic Epidemiology Society* 2009; 33(7), 581-598.

20. Antinori A, *et al.* Late presentation of HIV infection: a consensus definition. *HIV medicine* 2011; 12(1), 61-64.

21. Socio-economic Inequalities and HIV Writing Group for Collaboration of Observational HIV Epidemiological Research in Europe (COHERE) in EuroCoord. Delayed HIV diagnosis and initiation of antiretroviral therapy: inequalities by educational level, COHERE in EuroCoord. *Aids* 2014; 28(15), 2297-2306.

22. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico HIV AIDS. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, AIDS e Hepatite Virais. (2019).

23. Li T, *et al.* Reduced thymic output is a major mechanism of immune reconstitution failure in HIV-infected patients after long-term antiretroviral therapy. *Clinical Infectious Diseases* 2011; 53(9), 944-951.

24. Carvalho-Silva WHV, *et al.* CCR5 genotype and pre-treatment CD4+ T-cell count influence immunological recovery of HIV-positive patients during antiretroviral therapy. *Gene* 2020; 144568.

25. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the use of antiretroviral agents in adults and adolescents living with HIV (2018).

26. Unaid. The aids epidemic can be ended by 2030 with your help (2016).

27. Cornell M, *et al.* Gender differences in survival among adult patients starting antiretroviral therapy in South Africa: a multicentre cohort study. *PLoS Med* 2012; 9(9), e1001304.

28. Pido-Lopez J, Imami N, Aspinall R. Both age and gender affect thymic output: more recent thymic migrants in females than males as they age. *Clinical & Experimental Immunology* 2001; 125(3), 409-413.

29. Douek DC, *et al.* Changes in thymic function with age and during the treatment of HIV infection. *Nature* 1998; 396(6712), 690-695.
30. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, IBGE. <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/ba/barreiras.html> (accessed 20 October 2020).
31. Ribaldo HJ, *et al.* Effect of CYP2B6, ABCB1, and CYP3A5 polymorphisms on efavirenz pharmacokinetics and treatment response: an AIDS Clinical Trials Group study. *The Journal of infectious diseases* 2010; 202(5), 717-722.
32. Gross R, *et al.* CYP2B6 genotypes and early efavirenz-based HIV treatment outcomes in Botswana. *Aids* 2017; 31(15), 2107.
33. Parathyras J, *et al.* A pharmacogenetic study of CD4 recovery in response to HIV antiretroviral therapy in two South African population groups. *Journal of human genetics* 2009; 54(5), 261-265.
34. Hoffmeyer SOOHPJAITIMU, *et al.* Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2000; 97(7), 3473-3478.
35. Chaudhary PM, Roninson IB. Expression and activity of P-glycoprotein, a multidrug efflux pump, in human hematopoietic stem cells. *Cell* 1991; 66(1), 85-94.
36. Nasi M, *et al.* MDR1 C3435T genetic polymorphism does not influence the response to antiretroviral therapy in drug-naïve HIV-positive patients. *Aids* 2003; 17(11), 1696-1698.
37. Winzer R, *et al.* No influence of the P-glycoprotein polymorphisms MDR1 G2677T/A and C3435T on the virological and immunological response in treatment naïve HIV-positive patients. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials* 2005; 4(1), 3.
38. Wilson EM, *et al.* Monocyte-activation phenotypes are associated with biomarkers of inflammation and coagulation in chronic HIV infection. *The Journal of infectious diseases* 2014; 210(9), 1396-1406.
39. Wilson AG, *et al.* Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor α promoter on transcriptional activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1997; 94(7), 3195-3199.
40. Erikstrup C, *et al.* Reduced mortality and CD4 cell loss among carriers of the interleukin-10- 1082G allele in a Zimbabwean cohort of HIV-1-infected adults. *Aids* 2007; 21(17), 2283-2291.
41. Garrido P, *et al.* Evaluation of functional single nucleotide polymorphisms of different genes coding for the immunoregulatory molecules in patients with monoclonal large granular lymphocyte lymphocytosis. *Human immunology* 2008; 69(2), 101-107.
42. Wojcik GL, *et al.* Genetic analyses of diverse populations improves discovery for complex traits. *Nature* 2020; 570(7762), 514-518.

Table 1. Description of population included in the analysis (n=291)

Variable	Value
Male, n(%)	165(0.57)
Age at diagnosis, years, M/Md/Std(n)	35/34/11(291)
Age at starting of ART, years, M/Md/Std(n)	36/35/11(291)
Self reported ancestry, n(%)	
Brown	122(0.42)
White	60(0.21)
Black	35(0.12)
Other	6(0.02)
Missing data	68(0.23)
CD4 count at diagnosis, cells/mm3, M/Md/Std(n)	365/323/289(291)
Distribution of CD4 count at diagnosis, n(%)	
≤100	59(0.20)
>100 ou ≤200	39(0.13)
>200 ou ≤350	57(0.20)
>350 ou ≤500	67(0.23)
>500	69(0.24)
Baseline CD4 count, cells/mm3, M/Md/Std(n)	289/277/205(261)
Missing data, n(%)	30(0,1)
Distribution of baseline CD4 count, n(%)	
≤100	57(0.22)
>100 ou ≤200	40(0.15)
>200 ou ≤350	75(0.29)
>350 ou ≤500	59(0.23)
>500	30(0.11)
Last CD4 count, cells/mm3, M/Md/Std(n)	640/613/295(291)
Distribution of last CD4 count, n(%)	
≤100	5(0.02)
>100 ou ≤200	9(0.03)
>200 ou ≤350	34(0.12)
>350 ou ≤500	49(0.17)
>500	194(0.67)
Viral load at diagnosis, copies/ml, M/Md/Std(n)	156.524/20.949/540.744(291)
Baseline viral load, copies/ml, M/Md/Std(n)	178.713/30.746/288.782(261)
Missing data, n(%)	30(0,1)
Last viral load, copies/ml, M/Md/Std(n)	3.220/50/38.199(291)
Follow-up duration, days, M/Md/Std(n)	2.420/1.897/1.710(291)
Duration of treatment, days, M/Md/Std(n)	2.176/1.727/1.636(291)
ART regimens including at least n(%)	
NRTI	290(0.99)
NNRTI	210(0.72)
PI	74(0.25)
NRTI+NNRTI	100(0.34)
NRTI+PI	89(0.31)
NRTI+INI	50(0.17)
TDF	206(0.71)
EFZ	202(0.69)

n, number of individuals; M/Md/Std, Mean/Median/Standard Deviation; NRTI, nucleoside reverse-transcriptase inhibitor; NNRTI, nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitor; PI, protease inhibitor; TDF, tenofovir; EFZ, efavirenz.

Table 2. Genotype, allele frequencies and Hardy Weinberg Equilibrium calculation of selected SNPs.

		Frequency	Hardy Weinberg	Missing data
ABCB1 3435C>T (rs1045642)	C/C	108(0,37)	0,4626	3(0,01)
	C/T	132(0,45)		
	T/T	48(0,17)		
	C	(0,60)		
CYP2B6 516G>T (rs3745274)	G/G	122(0,42)	0,2701	25(0,09)
	G/T	110(0,38)		
	T/T	34(0,12)		
	G	(0,67)		
TNF α -308G>A (rs1800629)	G/G	208(0,72)	0,4389	11(0,04)
	G/A	69(0,24)		
	A/A	3(0,01)		
	G	(0,87)		
TNF α -238 G>A (rs361525)	G/G	252(0,87)	0,1783	11(0,04)
	G/A	26(0,09)		
	A/A	2(0,006)		
	G	(0,95)		

n(%); n, number of individuals.

Table 3. Predicted CD4 count recovery based on baseline CD4 count (cells/mm³).

Baseline CD4 count	Predicted CD4 ≤ 200	Predicted CD4 ≤ 350	Predicted CD4 ≤ 500	Predicted CD4 > 500
≤ 200 97(0.37)	11(0.11)	34(0.35)	56(0.58)	41(0.42)
≤ 350 172(0.66)	12(0.07)	41(0.24)	78(0.45)	94(0.55)
≤ 500 231(0.89)	13(0.06)	44(0.19)	87(0.38)	144(0.62)
> 500 30(0.11)	0(0)	0(0)	2(0.07)	28(0.93)

n(%); n, number of individuals.

Table 4. Univariate analyses of the effects of different variables on the CD4 count recovery during HAART.

Variable		n (%)	Coefficient	SE	DF	t	p value	
Gender (n=291)	Female	126(43)	588,61	22,26	2337	26	0,0501	
	Male	165(57)	-58,39	29,68	288	-2		
Age at diagnosis (n=291)	Intercept		653,89	48,05	2337	14	0,0032	
	Age (years)	291(100)	-2,83	1,32	288	-2		
Age at starting of ART (n=291)	Intercept		653,52	49,79	2337	13	0,0408	
	Age (years)	291(100)	-2,75	1,34	288	-2		
Self reported ancestry (n=222)	Yellow	3(1)	604,97	144,60	1833	4	0,944	
	White	60(21)	-13,76	148,31	217	0		
	Indigenous	3(1)	1,13	203,73	217	0		
	Black	35(12)	-47,32	150,70	217	0		
Viral load, copies/mL (n=291)	Intercept		698,13	17,66	2336	40	<0,0001	
	Viral load log10	291(100)	-75,00	5,28	2336	-14		
	Duration of treatment (n=291)	Intercept	465,55	15,73	2336	30		<0,0001
	Time (days)	291(100)	0,09	0,00	2336	20		
Protease inhibitor (n=291)	No	1398	535,96	15,39	2330	35	<0,0001	
	Yes	555	84,90	14,89	2330	6		
TDF+3TC+EFZ (n=291)	No	1501	539,20	15,83	2330	34	0,004	
	Yes	452	52,74	18,12	2330	3		
Tenofovir (n=291)	No	1174	495,52	17,15	2330	29	<0,0001	
	Yes	779	103,48	14,09	2330	7		
Efavirenz (n=291)	No	759	607,68	17,20	2330	35	<0,0001	
	Yes	1194	-92,35	14,76	2330	-6		
ABCB1 3435C>T (rs1045642)	C/T+ T/T	180	547,93	18,80	2325	29,14	0,5251	
	C/C	108	19,23	31,00	285	0,62		
CYP2B6 516G>T (rs3745274)	G/G + G/T	232	544,24	16,58	2187	32,82	0,1884	
	T/T	34	62,13	47,11	263	1,32		
TNF- α -308G>A (rs1800629)	G/G + G/A	277	553,35	14,96	2274	36,98	0,2885	
	A/A	3	-151,23	142,21	277	-1,06		
TNF- α -238 G>A (rs361525)	G/G + G/A	278	556,24	15,14	2253	36,73	0,7567	
	A/A	2	58,05	187,17	277	0,31		

n, number of individuals; SE, standard error; DF, degrees of freedom

Table 5. Multivariate analyses of the effects of different variables on the CD4 count recovery during HAART.

Variable	Coefficient	SE	DF	t	p value
Intercept	726,84	49,59	2328	14,66	<0,001
Duration of treatment, days	0,08	0,00	2328	17,21	<0,001
Age at diagnosis, years	-3,19	1,30	288	-2,46	0,0145
Viral load log10, copies/mL	-57,17	5,06	2328	-11,30	<0,001
Efavirenz	-51,59	13,72	2328	-3,76	0,0002

SE, standard error; DF, degrees of freedom

Figure 1. Clinical and epidemiological variables and the impact on CD4 count recovery during HAART.

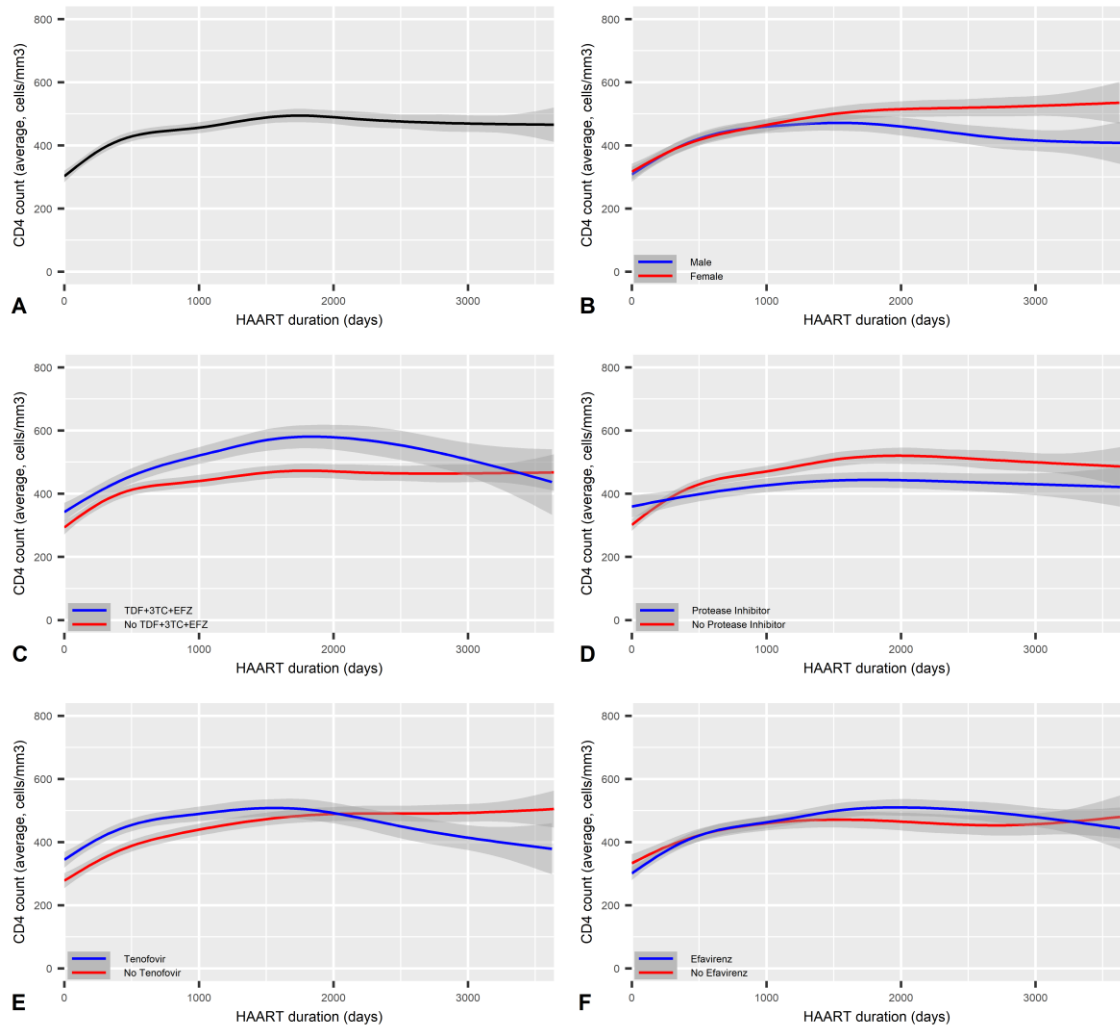
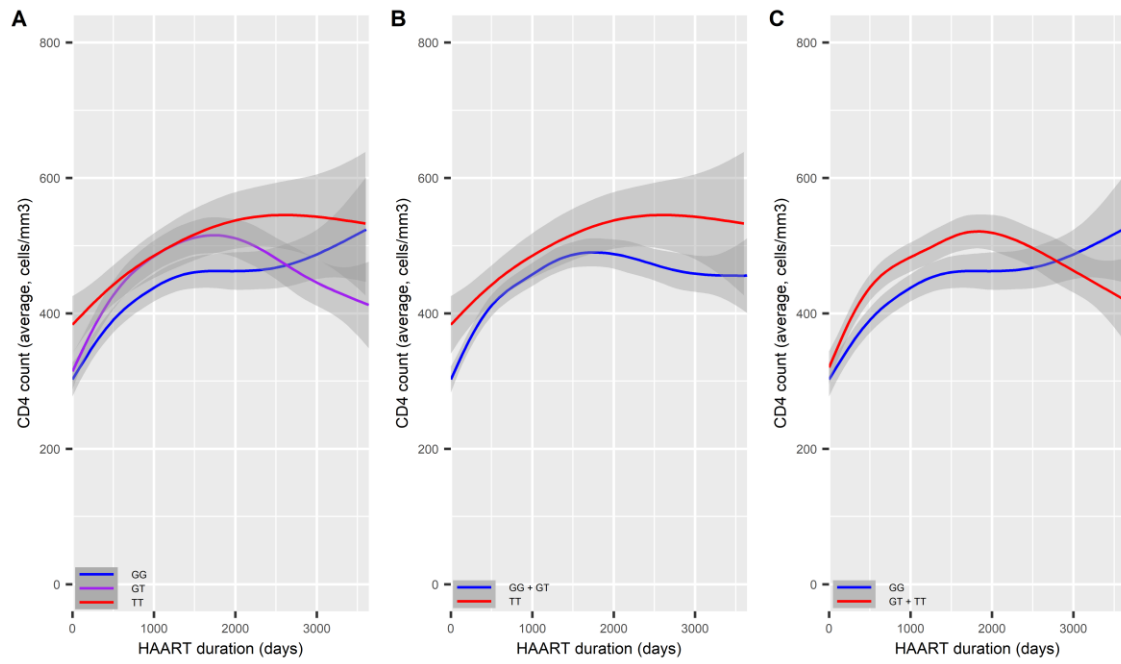


Figure 2. CD4 count recovery during HAART according to the CYP2B6 G516T genotypes.



Supplement to:**Genetic and non-genetic predictors of immune recovery in HIV/AIDS patients under HAART: a naturalistic pharmacogenetic study in Barreiras, Brazil.**

Luciana C.O. Cândido^{a,b,c}, João L.F. Araújo^{a,b}, Juliane V.F. Salomão^{a,b,c}, Kaio H. Santana^c, Rita C. Silva^d, Diego M. Bonfim^{a,b}, Luciano A. Reale^{c,d}, Renan P. Souza^{a,b,*}

^aGrupo de Pesquisa em Bioestatística e Epidemiologia Molecular; Laboratório de Biologia Integrativa; Departamento de Genética, Ecologia e Evolução; Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, Belo Horizonte, Brazil

^bPrograma de Pós-graduação em Genética, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

^cCentro das Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Oeste da Bahia, Bahia, Brazil

^dSpecialized Edgard Pita Ambulatory Service, Barreiras, Bahia, Brazil

*Correspondence: Renan Pedra de Souza, Departamento de Genética, Ecologia e Evolução; Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais UFMG, Av Antônio Carlos, 6627, Belo Horizonte, 31270901. Brazil. Tel: +553134092570, E-mail: renanrps@yahoo.com.br

Table S1. Therapeutic regimens used during follow-up and number of observations.

Therapeutic regimens	Number of observations
AZT/3TC/EFV	959
TDF/3TC/EFV	755
AZT/3TC/LPV/RTV	319
TDF/3TC/DTG	262
TDF/3TC/ATV/RTV	232
AZT/3TC/NVP	182
AZT/3TC/ATV/RTV	105
TDF/3TC/LPV/RTV	72
AZT/3TC/ATV	38
TDF/DDI/LPV/RTV	31
AZT/DDI/NVP	29
AZT/3TC/LPV	26
D4T/3TC/EFV	26
ABC/DDI/ATV/RTV	21
AZT/DDI/LPV	21
TDF/3TC/AZT/LPV/RTV	19
TDF/DDI/ATV/RTV	15
AZT/LPV/SQV/RTV	11
TDF/3TC/ATV	11
TDF/3TC/EFV/DRV/RTV	11
AZT/3TC/TDF/ATV/RTV	10
AZT/3TC/NFV	8
TDF/3TC/RAL	8
TDF/LPV/RTV/RAL	8
ABC/3TC/EFV	7
ABC/DDI/LPV/RTV	7
AZT/3TC/ATV/RTV/DTG	7
AZT/NFV	7
TDF/3TC/LPV/RTV/SQV	7
AZT/3TC	6
TDF/3TC/EFV/DRV	6
TDF/ATV/RTV/DTG	6
ABC/3TC/DDI/LPV/RTV	5
TDF/ATV	5
TDF/DRV/RTV/DTG	5
TDF/EFV/ATV/RTV	5
D4T/3TC/NFV	4
DTG/3TC/ATV/RTV	4
TDF/LPV/DTG	4
ABC/3TC/DDI/ATV/RTV	3
AZT/3TC/DTG	3
DRV/RAL/RTV	3
TDF/DDI/EFV	3
ABC/3TC/ATV/RTV	2
ABC/DDI/EFV	2
DDI/3TC/ATV/RTV	2
TDF/3TC/ATV/RTV/DTG	2
TDF/DRV/RTV/RAL	2
AZT/DDI/IDV	1
D4T/3TC/IDV	1
TDF/3TC/AZT	1
TDF/3TC/LPV	1
TDF/LPV/RTV/DTG	1
No HAART	529
Total =	3820

Table S2. Univariate analyses of the effects of genetic variables on the CD4 count recovery during HAART.

Variant	Model	Group	Coefficient	SE	DF	t	p value
ABCB1 3435C>T (rs1045642)	Dominance C	C/C + C/T	554,19	16,40	2325	33,79	0,9048
		T/T	4,79	39,98	285	0,12	
	Recessive C	C/T+ T/T	547,93	18,80	2325	29,14	0,5251
		C/C	19,23	31,00	285	0,62	
	Codominance	C/C	567,16	24,69	2325	22,97	0,7756
		C/T	-23,24	33,06	284	-0,70	
		T/T	-8,17	44,07	284	-0,19	
	Heterosis	C/C + T/T	564,59	20,42	2325	27,65	0,4928
		C/T	-20,67	29,98	285	-0,69	
	Additive C	2	567,16	24,69	2325	22,97	0,7756
1		-23,24	33,06	284	-0,70		
0		-8,17	44,07	284	-0,19		
CYP2B6 516G>T (rs3745274)	Dominance G	G/G + G/T	544,24	16,58	2187	32,82	0,1884
		T/T	62,13	47,11	263	1,32	
	Recessive G	G/T+ T/T	554,54	21,25	2187	26,10	0,8572
		G/G	-5,63	31,23	263	-0,18	
	Codominance	G/G	548,91	22,85	2187	24,02	0,4033
		G/T	-9,93	33,28	262	-0,30	
		T/T	57,45	49,73	262	1,16	
	Heterosis	G/G + T/T	561,04	20,30	2187	27,63	0,4858
		G/T	-22,05	31,59	263	-0,70	
	Additive G	2	548,91	22,85	2187	24,02	0,4033
1		-9,93	33,28	262	-0,30		
0		57,45	49,73	262	1,16		
TNF α -308G>A (rs1800629)	Dominance G	G/G + G/A	553,35	14,96	2274	36,98	0,2885
		A/A	-151,23	142,21	277	-1,06	
	Recessive G	G/A+ A/A	534,71	29,58	2274	18,08	0,5074
		G/G	22,72	34,24	277	0,66	
	Codominance	G/G	557,44	17,25	2274	32,32	0,5082
		G/A	-16,67	34,82	276	-0,48	
		A/A	-155,33	142,67	276	-1,09	
	Heterosis	G/G + A/A	555,17	17,12	2274	32,42	0,6790
		G/A	-14,40	34,77	277	-0,41	
	Additive G	2	557,44	17,25	2274	32,32	0,5082
1		-16,67	34,82	276	-0,48		
0		-155,33	142,67	276	-1,09		
TNF α -238 G>A (rs361525)	Dominance G	G/G + G/A	556,24	15,14	2253	36,73	0,7567
		A/A	58,05	187,17	277	0,31	
	Recessive G	G/A+ A/A	569,56	48,59	2253	11,72	0,7796
		G/G	-14,32	51,12	277	-0,28	
	Codominance	G/G	555,24	15,91	2253	34,91	0,9986
		G/A	11,06	52,86	276	0,21	
		A/A	59,03	187,52	276	0,31	
	Heterosis	G/G + A/A	555,67	15,83	2253	35,11	0,9592
		G/A	10,64	52,76	277	0,20	
	Additive G	2	555,24	15,91	2253	34,91	0,9986
1		11,06	52,86	276	0,21		

0	59,03	187,52	276	0,31
---	-------	--------	-----	------

SE, standard error; DF, degrees of freedom