

Universidade Feevale
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas
Mestrado em Toxicologia e Análises Toxicológicas

MAYARA BERNARDES

**FARMACOGENÉTICA DO HIV – UMA AVALIAÇÃO
DOS GENES ASSOCIADOS A DISLIPIDEMIAS**

Novo Hamburgo

2018

Universidade Feevale
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas
Mestrado em Toxicologia e Análises Toxicológicas

MAYARA BERNARDES

**FARMACOGENÉTICA DO HIV – UMA AVALIAÇÃO DOS GENES ASSOCIADOS
A DISLIPIDEMIAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas como requisito para a obtenção do título de Mestre em Toxicologia e Análises Toxicológicas.

Orientador(a): Prof^ª. Dra. Sabrina Esteves de Matos Almeida

Novo Hamburgo

2018

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

Bernardes, Mayara.

Farmacogenética do HIV : uma avaliação dos genes associados a dislipidemias / Mayara Bernardes. – 2017.
61 f. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado em Toxicologia e Análises Toxicológicas) – Feevale, Novo Hamburgo-RS, 2017.
Inclui bibliografia e apêndice.
"Orientador(a): Profª. Dra. Sabrina Esteves de Matos Almeida".

1. HIV (Vírus). 2. Dislipidemias. 3. Terapia antirretroviral. 4. Polimorfismo (Genética). 5. Farmacogenética. I. Título.

CDU 578.5:615

Universidade Feevale
Programa de Pós-Graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas
Mestrado em Toxicologia e Análises Toxicológicas

Mayara Bernardes

**FARMACOGENÉTICA DO HIV – UMA AVALIAÇÃO DOS GENES ASSOCIADOS
A DISLIPIDEMIAS**

Componentes da Banca Examinadora:

Prof^a. Dra. Sabrina Esteves de Matos Almeida
(Orientadora)
Universidade Feevale

Prof^a. Dra. Marina Venzon Antunes
Universidade Feevale

Prof^a. Dra. Larissa Schemes Heinzelmann
Universidade Feevale

Dra. Cláudia Maria Dornelles da Silva
CDCT/CEVS-Secretaria da Saúde do Estado
do Rio Grande do Sul.

RESUMO

A infecção pelo vírus HIV enfraquece o sistema imunológico do paciente infectado pelo vírus, reduzindo o número de linfócitos T-CD4, que são as células que auxiliam o nosso sistema imunológico a combater infecções. Diferente de outros vírus, a doença causada pelo vírus HIV não possui cura, entretanto é capaz de ser controlado por medicamentos chamados de terapias antirretrovirais (HAART), que são medicamentos em que cada classe atua em um momento da replicação do vírus, e sua finalidade é diminuir e/ou preservar a carga viral do paciente e diminuir o risco de transmissão do vírus. A terapia antirretroviral melhorou a qualidade de vida dos indivíduos que vivem com o HIV, bem como a expectativa de vida destes pacientes. Entretanto, muitos efeitos secundários estão associados ao uso da terapia antirretroviral em pacientes infectados pelo vírus HIV, como por exemplo as dislipidemias. Visto que genes candidatos parecem estar envolvidos em uma via integrada que afeta lipídios e lipoproteínas, um estudo transversal foi realizado a fim de examinar como SNP's podem contribuir para essas variações em indivíduos HIV positivos antes e após o uso da HAART. O presente estudo avaliou polimorfismos dos seguintes genes *CETP* (rs711752), *APOC3* (rs5128), *SREBP1* (rs60282872), *NR1I2* (rs1523130 e rs247267), *CYP2B6* (rs3745274) e *ABCB1* (rs1045642). Foram investigados 212 pacientes HIV positivos atendidos pelo Serviço de DST Aids do Laboratório Central do Município de Porto Alegre, CSVIC (Porto Alegre, Brasil). Foram coletados dados de perfil lipídico, glicose, CD4, Carga Viral (CV), bem como dados clínicos e sócio comportamentais. O DNA genômico foi extraído de amostras de sangue periférico pelo método de *salting-out*. Os genótipos foram obtidos através do uso de enzimas de restrição, após a amplificação com *primers* específicos para cada gene. Os SNPs dos genes *CETP*, *SREBP*, *ABCB1* e *CYP2B6* não tiveram nenhum efeito isolado nos níveis de lipídios e lipoproteínas. O SNP (rs5128) do gene *APOCIII* foi fortemente associado a variações na concentração de triglicerídeos ($p=0,033$). Para o gene *NR1I2* (rs1523130) verificou-se uma associação significativa com os níveis de HDL-C ($p=0,006$). Após o uso da terapia com inibidores de protease, os indivíduos com o alelo G do *APOC3* rs5128 SNP apresentaram níveis mais baixos de colesterol HDL do que os pacientes com o genótipo CC ($P = 0,025$). Após a terapia antirretroviral, 42,2% dos indivíduos aumentaram a contagem de T-CD4 + para ≥ 500 células / mm³ (mediana = 378, IQR 272-534) e 74,5%

apresentaram HIV-RNA indetectável (<50 cópias / mL). O NR1I2 rs1523130 ($P = 0,007$) foi associado à mudança de T-CD4 + e a análise pós-hoc indicou que o aumento da contagem de células T-CD4 + foi menor em indivíduos com o genótipo AA do que em AG ($P = 0,002$) e GG ($P = 0,023$) indivíduos homozigotos. O modelo de regressão (incluindo todas as variáveis) confirma a contagem de células T-CD4 + de base (R^2_{x100} parcial = 29,50, $P < 0,001$) e genótipo NR1I2 rs1523130 AA (R^2_{x100} parcial = 6,97, $P = 0,005$) como preditores independentes da porcentagem de T-CD4 + mudança. Esses achados reforçam a importância da avaliação do gene NR1I2 na recuperação de células CD4. Este é o primeiro estudo publicado a demonstrar uma associação de variantes do gene NR1I2 com parâmetros lipídicos em pacientes HIV positivos. A identificação de variantes genéticas associadas a baixos níveis de HDL-C e TG elevados para o polimorfismo do gene *APOCIII*, pode desempenhar um papel importante na prevenção de DCV em portadores de HIV, bem como a seleção de agentes antirretrovirais com menor perfil de risco cardiovascular.

Palavras-Chave: HIV. HAART. Dislipidemia. polimorfismos genéticos. recuperação de CD4.

ABSTRAT

HIV infection weakens the immune system of the virus-infected patient by reducing the number of T-CD4 lymphocytes, which are the cells that help our immune system fight infections. Unlike other viruses, the disease caused by the HIV virus has no cure, however it is able to be controlled by drugs called antiretroviral therapies (HAART), which are drugs in which each class acts at a time of virus replication, and its purpose is to decrease and / or preserve the patient's viral load and decrease the risk of virus transmission. Antiretroviral therapy has improved the quality of life of individuals living with HIV, as well as the life expectancy of these patients. However, many side effects are associated with the use of antiretroviral therapy in patients infected with the HIV virus, such as dyslipidemias. Because candidate genes appear to be involved in an integrated pathway that affects lipids and lipoproteins, a cross-sectional study was conducted to examine how SNPs may contribute to these variations in HIV-positive individuals before and after HAART use. The present study evaluated polymorphisms of the following genes CETP (rs711752), APOCIII (rs5128), SREBP1 (rs60282872), NR1I2 (rs1523130 and rs247267), CYP2B6 (rs3745274) and ABCB1 (rs1045642). A total of 212 HIV positive patients attended by the STD AIDS Service of the Central Laboratory of the Municipality of Porto Alegre, CSVC (Porto Alegre, Brazil) were investigated. Data of lipid profile, glucose, CD4, Viral Load (CV), as well as clinical and behavioral social data were collected. Genomic DNA was extracted from peripheral blood samples by the salting-out method. Genotypes were obtained through the use of restriction enzymes, after amplification with specific primers for each gene. SNPs of the CETP, SREBP, ABCB1 and CYP2B6 genes had no isolated effect on lipid and lipoprotein levels. APOCIII SNP was strongly associated with variations in triglyceride concentration ($p = 0.033$). For the NR1I2 gene (rs1523130) there was a significant association with HDL-C levels ($p = 0.006$). After the use of protease inhibitor therapy, individuals with the G allele of APOC3 rs5128 SNP had lower HDL cholesterol levels than patients with the CC genotype ($P = 0.025$). After antiretroviral therapy, 42.2% of subjects increased the T-CD4 + count to ≥ 500 cells / mm³ (median = 378, IQR 272-534) and 74.5% had undetectable HIV-RNA (<50 copies / mL). NR1I2 rs1523130 ($P = 0.007$) was associated with a change in T-CD4 + and post-hoc analysis indicated that the increase in CD4 + T cell counts was lower in individuals with the AA genotype than in

TC ($P = 0.002$) and CC ($P = 0.023$) homozygous individuals. The regression model (including all variables) confirms the base T-CD4 + cell count ($R^2_{\text{partial}} = 29.50$, $P < 0.001$) and genotype NR1I2 rs1523130 AA ($\text{partial } R^2_{\text{partial}} = 6.97$, $P = 0.005$) as independent predictors of the percentage of T-CD4 + change. These findings reinforce the importance of NR1I2 gene evaluation in CD4 cell recovery. This is the first published study to demonstrate an association of variants of the NR1I2 gene with lipid parameters in HIV-positive patients. The identification of genetic variants associated with low HDL-C and high TG levels may play an important role in the prevention of CVD in HIV patients, as well as the selection of antiretroviral agents with a lower cardiovascular risk profile.

Keywords: HIV. HAART. Dyslipidemia. Genetic polymorphisms. CD4 recovery.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	8
1.1 HISTÓRICO	8
1.2 EPIDEMIOLOGIA	9
1.3 INFECÇÃO	10
1.4 TERAPIA ANTIRRETROVIRAL	10
1.4.1 Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleotídeos	14
1.4.2 Inibidores da Transcriptase Reversa Não Análogos de Nucleotídeos	14
1.4.3 Inibidores da Protease	15
1.4.4 Inibidores de Fusão.....	15
1.4.5 Inibidores da Integrase	15
1.5 DISLIPDEMIAS	16
1.6 FARMACOGENÉTICA	18
1.6.1 CETP.....	19
1.6.2 APOCIII	20
1.6.3 SREBP1	21
1.6.4 NR1I2	21
1.6.5 CYP2B6	22
1.6.6 ABCB1 (MDR)	23
2 OBJETIVO	24
2.1 OBJETIVO GERAL	24
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	24
CAPÍTULO 1: ARTIGO SUBMETIDO A REVISTA: BMC INFECTIOUS DISEASES	25
Variants in the <i>NR1I2</i> and <i>APOC3</i> genes are associate with changes in lipid levels and CD4 recovery in HIV-positive patients	
3 CONSIDERAÇÕES FINAIS	54
REFERÊNCIAS.....	56
APÊNDICE - PARECER ÉTICA E PESQUISA	63

1 INTRODUÇÃO

1.1 HISTÓRICO

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é um retrovírus humano, causador do enfraquecimento do sistema imunológico, devido aos baixos níveis de linfócitos TCD4 no sangue. A principal característica desse retrovírus é a sua estratégia de replicação, que inclui a transcrição reversa do RNA viral em DNA e a posterior integração desse DNA no genoma da célula hospedeira (MEDEIROS, et al.; 2013). O HIV é classificado em dois tipos, o HIV tipo 1 e o HIV tipo 2, sabendo que o HIV tipo 1 possui maior virulência e é responsável pela maioria das infecções de HIV no mundo (COSTIN, 2007).

A transmissão do vírus ocorre através de relações sexuais, contato sanguíneo ou ainda a chamada transmissão vertical, através do aleitamento materno ou até mesmo durante o parto. Pode se afirmar que com os testes sorológicos cada vez mais sensíveis para a detecção do HIV, o risco de transmissão através de transfusão sanguínea diminuiu consideravelmente (SOARES, 2011; MATTE, 2012).

A síndrome da imunodeficiência adquirida (aids) foi descoberta antes de se conhecer o agente etiológico da doença. Os primeiros casos de aids ocorreram no ano de 1981, onde usuários de drogas e homossexuais encontravam-se com seu sistema imunológico debilitado, visivelmente sem motivo. Estes pacientes apresentavam sintomas de pneumonia, causada por *Pneumocystis carinii*, e de câncer, chamado de sarcoma de Kaposi. Mais tarde, ocorreram surtos destas patologias, e devido a isto, concluiu-se que se tratava de uma doença infecciosa, causada por um agente imunossupressor.

Apenas em 1983 isolaram HIV-1 pela primeira vez e a partir de então foi estabelecida a sua associação com a aids. O CDC (*Centers for Disease Control*) reconheceu a aids no ano de 1981, em Atlanta, nos EUA, e no ano de 1982 publicou um artigo com a primeira definição de um caso de AIDS, baseada em infecções oportunistas. No Brasil, o primeiro caso de AIDS foi publicado em 1987. No final da década de 1980, a aids tornou-se uma epidemia mundial. (COSTIN, 2007; SOARES, 2005; SOUZA, 2011; MATTE, 2012).

1.2 EPIDEMIOLOGIA

Segundo a Organização das Nações Unidas (ONU), estima-se que até o final do ano de 2016, 36,7 milhões de pessoas no mundo vivem com o HIV, destes, foram 1,8 milhão de novos casos de infecção pelo vírus, e em torno de 1 milhão de pessoas foram a óbito por mortes relacionadas ao HIV (UNAIDS, 2017). Estima-se que estes números possam ser bem maiores, pois existem muitos indivíduos que desconhecem o seu estado sorológico, ou mesmo não são notificados.

No Brasil, desde de 1980 a junho de 2016, foram identificados 842.710 casos de aids, e segundo dados do Ministério da Saúde, nos últimos cinco anos o país tem registrado uma média de 41,1 mil casos de aids por ano (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). O Brasil é o país da América Latina aonde mais se concentram novos casos de infecções por HIV, cerca de 49% de novas infecções. Segundo dados recentes da UNAIDS, em 2016 estima-se que em torno de 48.000 casos de novas infecções ocorreram no Brasil. Do ano de 1980 até 2016, cerca de 830.000 pessoas convivem com o vírus HIV, e o número de mortes relacionadas ao HIV no Brasil foi de 14.000 indivíduos (UNAIDS, 2017).

De acordo com o Ministério da Saúde, do ano de 2007 até junho de 2016, o SINAN notificou 136.945, destes, 71.396 foram da região Sudeste (52,1%), 28.879 da região Sul (21,1%), 18.840 do Nordeste (13,8%), 9.152 do Centro-Oeste (6,7%) e 6.868 da região Norte (6,3%). No Rio grande do Sul, foram 13.885 casos notificados pelo SINAN, até junho de 2016, destes, 38,7% estão concentrados na capital. O HIV e a aids fazem parte da Lista Nacional de Notificação Compulsória de Doenças (Portaria no 204, de 17 de fevereiro de 2016), sendo assim, qualquer caso de HIV ou aids deve ser reportado para as autoridades de saúde. No ano de 2015, foram 39.113 casos registrados de HIV, 56,3% foram vindos do SINAN, 7,4% do SIM e 36,3% do Siscel (Sistema de Informação de Exames Laboratoriais) / Siclom (Sistema de Controle Logístico de Medicamentos). Dos anos de 2000 a 2015, foi um total de 634.051 casos registrados, e somente 70,3% foram oriundos do Sinan (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016). Estima-se um número muito maior de casos de indivíduos infectados pelo HIV, uma vez que muitos não são notificados ou nem mesmo o paciente conhece o seu estado sorológico.

1.3 INFECÇÃO

A infecção pelo vírus HIV é um importante problema de saúde pública em todo o mundo, ela ocorre quando o genoma do RNA viral entra em contato com as células de defesa, os LT-CD4, e é convertido em DNA, que se agrega no núcleo da célula e em seguida se replica. O vírus HIV tem uma alta taxa de mutação (KIERTIBURANAKUL, et al., 2015; MYERSON, 2015). A infecção pelo vírus HIV é caracterizado por três estágios clínicos, a presença do vírus no sangue, seguindo pela fase de latência, no qual pode durar anos, e então a aids clínica (CHAKRABORTY, 2014; COSTIN, 2007).

Com o passar do tempo, o sistema imunológico de um indivíduo com o HIV destrói estas células de defesa, e sem a quantidade adequada das células T auxiliares, o sistema imune fica comprometido, ou seja, o organismo não consegue mais ser capaz de resistir a infecções e doenças, e conseqüentemente se torna suscetível a infecções oportunistas (MEDEIROS, et al., 2013). Quando isso ocorre, os níveis de LT-CD4 estão bem inferiores ao valor de referência, e a infecção pode evoluir para a aids. É importante ressaltar que o tempo entre a infecção por HIV e o surgimento da aids podem levar alguns anos, inclusive pacientes podem ser assintomáticos neste período de tempo. Estudos relatam que a contagem de 300 células TCD4 por microlitro de sangue, ou mais, estão associadas a um bom desempenho do sistema imune. Indivíduos não infectados por HIV, tem a contagem de TCD4 entre 800-1200 células por microlitro de sangue (MYERSON, 2015).

1.4 TERAPIA ANTIRRETROVIRAL

Diferente de outros vírus, o HIV não pode ser eliminado pelo nosso organismo, devido à rapidez de sua replicação viral, fazendo assim com que a aids não tenha nenhuma cura segura e eficaz. A constatação de que não há cura para o HIV ressaltou a necessidade de ampliar as abordagens preventivas, com isso, a aids pode ser vista como uma doença controlada, devido ao uso de terapias antirretrovirais (HAART), no qual existem várias classes de medicamentos, onde

cada uma atua em uma parte diferente da replicação do vírus (MYERSON, 2015; TSENG, SEET e PHILLIPS, 2015).

O Brasil, dentre os países de baixa e média renda, foi um dos primeiros a fornecer o tratamento com antirretrovirais gratuito para as pessoas que viviam com aids no ano de 1996, pelo Serviço Único de Saúde (SUS) (UNAIDS, 2017). A introdução da terapia antirretroviral no ano de 1996 trouxe redução no número de mortes de indivíduos infectados pelo vírus HIV, restaurando a imunidade dos indivíduos, e fazendo com que o HIV não seja visto como uma doença mortal, e sim uma doença crônica. Cerca de 19,5 milhões de pessoas no mundo vivem com o HIV e estão fazendo o uso da HAART (ASENSI, COLLAZOS & VALLE-GARAY, 2015; SANTIPRABHOB, et al., 2017; WHO, 2017).

A finalidade da terapia antirretroviral é diminuir a carga viral dos indivíduos infectados pelo HIV bem como a preservação da carga viral, estabilizar a imunidade do paciente e a diminuição do risco de transmissão do vírus (MEDEIROS, et al., 2013; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015). Para a introdução do tratamento com a HAART, o estado clínico do paciente com HIV era levado em conta, assim como a sua contagem de linfócitos TCD4, sendo que a terapêutica era iniciada quando o paciente obtinha contagem de LT-CD4 de igual ou inferior a 350 células/mm³. Quanto menor estiver a contagem de LT-CD4, maior o risco de progressão para AIDS (UNAIDS, 2013).

Desde o ano de 2014, o Brasil iniciou um novo protocolo para o início do tratamento com as terapias antirretrovirais, estabelecendo que qualquer indivíduo com o vírus HIV, independentemente de sua contagem de LT-CD4 inicie a HAART. Esse protocolo foi proposto pela UNAIDS, a partir de estudos que mostraram que pessoas que iniciaram o tratamento precocemente apresentam redução na transmissão do vírus HIV, bem como as chances de alcançar níveis elevados de LT-CD4 aumentaram (UNAIDS, 2013). Com isso, iniciou-se uma estratégia para erradicar a epidemia de aids, a meta denominada 90 90 90, no qual estabelece que até o ano de 2020, 90% das pessoas vivendo com HIV serão diagnosticadas e saberão do seu estado sorológico, 90% das pessoas com a infecção pelo vírus HIV diagnosticadas receberão a terapia antirretroviral, e 90% de todas as pessoas que estarão recebendo a terapia antirretroviral terão supressão viral, e que até 2030 a aids será erradicada (UNAIDS, 2013). Hoje em dia o Brasil, entre os países de baixa e média renda, possui 64% dos indivíduos diagnosticados com HIV e recebendo a

terapia antirretroviral, enquanto que a média global em 2016 foi de 53% de indivíduos fazendo o uso da HAART (WHO, 2016; UNAIDS, 2017).

Medicamentos antirretrovirais podem prolongar significativamente a vida das pessoas portadoras do vírus HIV, e diminuir a chance de infectar novas pessoas, se tomada de maneira correta. A terapia combinada dos medicamentos previne o desenvolvimento das infecções, reduz o risco de progressão para AIDS e o desenvolvimento de cepas virais resistentes, diminui a carga viral e aumenta a contagem de LT-CD4, além de melhorar a qualidade de vida do paciente (WHO, 2016; MYERSON, 2015; SOARES, 2011).

Sabe-se que o início do tratamento com antirretrovirais trouxe benefícios clínicos para o paciente com o vírus HIV, e a sua sobrevida aumentou significativamente, assim como sua qualidade de vida. Entretanto, com a introdução da HAART, e o seu uso precoce, o aparecimento de novos problemas foi relacionado ao uso contínuo e a longo prazo da terapia antirretroviral. Os efeitos colaterais mais frequentes que se apresentam no início do tratamento incluem cansaço, náusea, vômitos, diarreia, dores musculares, dores de cabeça e irritação de pele. Dentre os efeitos secundários, os mais comuns da HAART incluem dislipidemia, lipodistrofia periférica, hiperlipidemia, intolerância à glicose e resistência à insulina (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Estas alterações constituem fatores de risco associados ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares, uma das principais causas de morte no mundo (BERTHOLD et al., 1999; CECCATO et al., 2011; HUI, 2003). Indivíduos que vivem com HIV e estão em tratamento possuem um risco estimado superior a 20% de desenvolverem doenças cardiovasculares. (KAZOOBA, et al., 2017; UNAIDS, 2013). Estudos mostraram que a redistribuição da gordura corporal e anormalidades metabólicas são considerados os efeitos colaterais mais preocupantes em pacientes em tratamento com antirretrovirais, sendo mais frequente, as doenças cardiovasculares (LAZZARETTI et al., 2013; MYERSON, 2015; SOARES, 2011). Outros efeitos variam de acordo com o tipo de medicamento que está sendo usado. Pacientes com AIDS em estágio avançado tendem a apresentar reações adversas com maior frequência (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

A hipertrigliceridemia, está associada com a infecção pelo vírus HIV, sendo uma das anormalidades lipídicas mais comum entre os pacientes, ela pode ocorrer isoladamente ou em conjunto com a hipercolesterolemia, especialmente em

pacientes com indício de anormalidades de gordura corporal. Além do mais, muitos pacientes infectados pelo HIV possuem baixos níveis de HDL-C, e estes níveis são ainda mais reduzidos com o uso de terapias antirretrovirais (CECCATO, et al., 2011).

Os antirretrovirais possuem várias classes de medicamentos, atualmente, no Brasil existem 23 fármacos antirretrovirais, que são divididos em cinco classes de acordo com o seu mecanismo de ação (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013): Existem os inibidores de transcriptase reversa análogos de nucleotídeos (ITRN), que atuam na enzima transcriptase reversa, agrupando-se à cadeia de DNA que o vírus cria, tornando essa cadeia imperfeita e impedindo que o vírus se reproduza; os inibidores de transcriptase reversa não-análogos de nucleotídeos (ITRNN), que bloqueiam diretamente a ação da enzima, sua multiplicação e o desenvolvimento da invasão no organismo; os inibidores de protease (IP), que atuam no estágio final da replicação do vírus, impedindo a produção de novas cópias de células infectadas com HIV, uma vez que inibem o sítio catalítico da protease do HIV. Tem ainda, os inibidores de fusão (IF), que bloqueiam a entrada do vírus nas células LT-CD4, e os inibidores da integrase, que são medicamentos que bloqueiam a atividade da enzima integrase, responsável pela inserção do DNA do vírus HIV ao DNA humano. Assim, inibe a replicação do vírus e sua capacidade de infectar novas células. O AZT foi o primeiro análogo de nucleotídeo inibidor da transcriptase reversa a ser liberado para uso clínico (MEDEIROS et al., 2013).

Normalmente duas ou mais classes de medicamentos antirretrovirais são utilizadas em conjunto. Segundo o Ministério da Saúde, as combinações de drogas seriam: dois ITRN's com um ITRNN ou um IP, associado a baixas doses de Inibidor de protease reforçado com ritonavir (IP/r), que inibe a ação da enzima *CYP3A4*, prolongando a meia vida do fármaco. Para tratamento inicial, pode ser utilizado uma posologia mais simples, com esquema associando dois ITRNs + ITRNN que facilitam a adesão ao tratamento, apresentam tempo de supressão viral mais prolongado e possuem um perfil de toxicidade mais favorável. As escolhas de tratamento com esquemas incluindo IP possuem uma maior elevação na contagem de LT-CD4, entretanto a ocorrência de dislipidemias como efeito secundário ao medicamento ocorre com maior frequência quando se utiliza essa classe de medicamento, comparando a associações com ITRNN, pois esta classe de medicamento pode ocasionar complicações metabólicas e lipídicas a longo prazo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008; SANTIPRABHOB, et al., 2017).

1.4.1 Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleotídeos

Os Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleotídeos (ITRN) foram os primeiros antirretrovirais a serem aprovados para uso clínico. Como exemplos de fármacos existem: Zidovudina (AZT), Lamivudina (3TC), Tenofovir (TDF) e Abacavir (ABC). A glucoronidação hepática é a via metabólica predominante da zidovudina (AZT), enquanto que o Abacavir é metabolizado no fígado por intermédio das vias metabólicas álcool-desidrogenase e glucoronidação. A Lamivudina (3TC) e o Tenofovir (TDF) são excretados pelo rim. As concentrações intracelulares, tanto AZT como da 3TC, demonstram uma correlação positiva com o aumento de células TCD4+ e diminuição da carga viral do HIV em pacientes em tratamento com terapia antirretroviral (JESUS, 2014).

1.4.2 Inibidores da Transcriptase Reversa Não Análogos de Nucleotídeos

Os Inibidores da Transcriptase Reversa Não Análogos de Nucleotídeos (ITRNN) são uma classe de antirretrovirais que atuam como inibidores não competitivos da transcriptase reversa do HIV. Como exemplo de fármacos, incluem a nevirapina (NVP), Efavirenz (EFV) e o Etravirina (ETR). A nevirapina é amplamente utilizada em países de baixa renda, devido ao seu baixo custo, sendo também indicada para gestantes por não ser um agente teratogênico conhecido.

Na maioria dos protocolos da HAART, a administração de efavirenz junto com mais dois ITRN é recomendado como primeira linha de tratamento para pacientes que iniciam a terapia, sendo assim, o EFV é um dos fármacos antirretrovirais mais utilizados (KIERTIBURANAKUL, et al., 2015; JESUS, 2014).

O Efavirenz (EFV) é predominantemente metabolizado pela *CYP2B6*, com pequena contribuição do *CYP3A4*, *CYP3A5* e *CYP2A6*. A nevirapina (NVP) é predominantemente metabolizada pelo *CYP3A4* e pelo *CYP2B6* (JESUS, 2014).

1.4.3 Inibidores da Protease

Um dos mais importantes alvos da terapia antirretroviral é a protease viral do HIV. Os Inibidores da Protease (IPs) atuam na fase final da replicação viral, ao intervirem com a enzima protease do HIV. Os principais fármacos encontrados são: lopinavir (LPV), Nelfinavir (NFV), Darunavir (DRV), Atazanavir (ATV) e Indinavir (IDV), ambos substratos e inibidores da CYP3A (JESUS, 2014).

Os agentes antirretrovirais, principalmente os Inibidores de Protease estão associados a fatores de risco cardiometabólicos como efeito secundário, incluindo metabolismo da glicose prejudicada, obesidade, hipertensão e dislipidemia (KAZOOBA, et al., 2017). Este aumento promove uma inflamação, um cansaço do miocárdio e podem ser capazes de levar à resistência à insulina e à disfunção cardíaca (JESUS, 2014). Estudos observaram que pacientes que se encontram em terapia antirretroviral com o inibidor da protease ritonavir, possuem uma significativa hipertrigliceridemia. (JESUS, 2014).

1.4.4 Inibidores de Fusão

Na infecção pelo vírus HIV, para que complete o seu ciclo reprodutivo, é necessária a fusão com um linfócito T (LT-CD4), aonde se deposita a sua informação genética. Caso o vírus não consiga invadir a célula de defesa, ele não tem como se replicar. Os fármacos inibidores de fusão combinam inibidores de cada etapa do processo de ligação do vírus com a célula hospedeira, sendo assim, essa classe de medicamento representa uma estratégia no combate à replicação viral, impedindo que o vírus infecte as células e ou até mesmo inicie a infecção (SOUZA, 2005).

1.4.5 Inibidores da Integrase

Os Inibidores da Integrase constituem uma nova classe de fármacos para o tratamento de pacientes com o vírus HIV. Como exemplo de fármaco inibidor da

integrase, existem o Raltegravir (RAL) e o Dolutegravir (DTG). Esta classe de medicamento atua impedindo a integração do genoma do vírus HIV no DNA das células do hospedeiro, que é o que estabelece a infecção para o resto da vida.

Como já se sabe, para todas as classes de medicamentos antirretrovirais existentes, o HIV pode desenvolver mutações de resistência. Dados clínicos indicam que já surgiram cepas de vírus resistentes à primeira geração de inibidores de integrase (JESUS, 2014).

Um novo protocolo para o uso dos antirretrovirais que ainda se encontra em revisão, passou a incluir o dolutegravir para manejo terapêutico da infecção pelo HIV como esquema inicial preferencial. Este fármaco possui alta potência, alta barreira genética, uma administração em dose única e diária e poucos efeitos adversos, o que contribui para um esquema terapêutico mais duradouro (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

1.5 DISLIPIDEMIAS

A dislipidemia é um fator de risco bem estabelecido para risco de doenças cardiovasculares, uma das principais causas de morte no mundo. Segundo Ceccato, et al. (2011) as doenças cardiovasculares constituem a terceira principal causa de morte entre os indivíduos HIV positivos na Europa (CECCATO et al., 2011). De acordo com a OMS, é previsto que até o ano de 2030, até 40% das mortes estarão relacionadas à doenças cardiovasculares, atingindo aproximadamente 23,6 milhões de pessoas no mundo (KIM et al., 2017).

As dislipidemias são caracterizadas por níveis elevados de colesterol total, colesterol LDL e triglicerídeos, e por níveis baixos de colesterol HDL. Têm sido relatadas mudanças no metabolismo lipídico, associadas a pacientes com HIV que fazem o uso da terapia antirretroviral a longo prazo, em todas as faixas etárias. Segundo um estudo de Souza *et al.* (2013), pacientes tratados com fármacos inibidores da protease apresentam aumento das concentrações de colesterol e triglicerídeos, enquanto que um aumento dos níveis de HDL-C foi notado nos pacientes que recebiam a nevirapina (JESUS, 2014; MALLON & PATRICK, 2006). Estas mudanças lipídicas ocorrem nos três primeiros meses após o início do tratamento e tendem a estabilizar após seis a nove meses. Pacientes que estão

infectados pelo HIV, quando observado o seu estado cardiovascular, primeiramente observa-se que a terapia antirretroviral, da classe dos inibidores de protease, não traz melhora para esta patologia, uma vez que estes pacientes podem desenvolver várias alterações metabólicas, mas foram, mais tarde observados também em pacientes cujos regimes compreendiam os ITRN e ITRNN (JESUS, 2014; TEIXEIRA JÚNIOR, 2005).

Alguns antirretrovirais têm sido associados a alterações metabólicas. O fármaco ritonavir tem sido associado à hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia, o lopinavir foi mais associado a induzir dislipidemia do que atazanavir/ritonavir e darunavir/ritonavir. A estavudina tem sido associada ao aumento de colesterol total, LDL-C e triglicérides, tal como o desenvolvimento de lipoatrofia. Entre as classes dos ITRNN, o efavirenz tem sido associado a um aumento nos triglicérides, LDL-C e HDL-C (SANTIPRABHOB, et al., 2017).

Uma síndrome cardiometabólica associada aos pacientes infectados pelo vírus HIV, que resulta em má distribuição de gordura, aumento da gordura abdominal, índices de triglicérides elevados e baixo colesterol HDL, pode ser acentuada pelo uso de terapias antirretrovirais. Um estudo mostrou que o vírus HIV possui alto grau de inflamação dentro da parede arterial e pacientes infectados com o vírus possuem maior risco de doença cardiovascular (DCV). Estas mudanças também podem estar associadas a etnia, raça, sexo, estilo de vida e perfil genético do indivíduo (MYERSON, 2015). Com isso, a importância da identificação da patologia e o tratamento são fundamentais, visto que, o risco de desenvolver uma doença arterial coronariana aumenta em 50% nos pacientes que estão infectados pelo vírus HIV (JESUS, 2014; TEIXEIRA JÚNIOR, 2005).

Adultos infectados pelo vírus HIV apresentam maior risco de DCV, em comparação com a população em geral. Dislipidemias, metabolismo anormal da glicose, aumento das citocinas inflamatórias, e a própria infecção pelo vírus HIV contribuem para o desenvolvimento de DCV precoce em pacientes infectados pelo vírus (SANTIPRABHOB, et al., 2017).

É possível que o risco de DCV possa ser maior em adolescentes infectados pelo vírus HIV do que em indivíduos que adquiriram a infecção já na idade adulta, pois estes pacientes foram tratados com HAART desde uma idade muito jovem, o que contribui para os efeitos adversos a longo prazo (SANTIPRABHOB, et al., 2017).

Pacientes com dislipidemias e problemas cardiovasculares que estão infectados pelo vírus HIV, e já fazem o uso de HAART, devem continuamente fazer acompanhamento médico para determinar os fatores de risco para alterações nos níveis de LDL e HDL, e se houver possibilidade, trocar o medicamento inibidor de protease por outro. Mudanças na dieta, no estilo de vida do paciente e a modificação da terapia antirretroviral podem contribuir para que os níveis de LDL e HDL se mantenham dentro da normalidade (CECCATO, et al., 2011; TEIXEIRA JÚNIOR, 2005).

1.6 FARMACOGENÉTICA

A farmacogenética estuda a variabilidade genética dos indivíduos frente a fármacos específicos, ela faz a conexão entre a variabilidade interindividual e a metabolização dos fármacos de maneira a aumentar seu efeito terapêutico, diminuindo assim a toxicidade para o paciente. Através da análise de determinadas mutações e variações genéticas (SNPs), espera-se identificar as combinações de fármacos mais eficazes que possam adaptar uma terapia com eficácia, envolvendo o menor risco ao paciente e criando uma terapia individualizada para cada indivíduo (JESUS, 2014).

Nem todos os pacientes infectados pelo vírus HIV que iniciam com um medicamento antirretroviral, desenvolvem o efeito secundário que tem sido atribuído a esses medicamentos. Por conseguinte, foi postulado que deve haver uma predisposição genética de cada indivíduo, condicionado para desenvolver o efeito adverso (VELOSO, et al., 2010). Com isso, a farmacogenética tem como objetivo, identificar pacientes que estão infectados com o vírus HIV, porém apresentam características genéticas diferenciadas entre si, resultando em diferentes respostas ao tratamento e efeitos adversos diferenciados. Para os antirretrovirais, seria de grande utilidade a aplicação da farmacogenética, pois estes medicamentos possuem índice terapêutico estreito associado a variáveis farmacocinética e farmacodinâmica (ACETI et al., 2015).

A terapia antirretroviral, por ser de uso crônico do paciente, recomenda-se a introdução de terapias personalizadas para cada indivíduo, a fim de otimizar a resposta terapêutica e a prevenção de reações adversas, pois é sabido que cada

indivíduo pode apresentar variabilidade na resposta ao medicamento e susceptibilidade a toxicidade diferentes, mesmo sendo tratados com a mesma dose e o mesmo medicamento. Fatores que levam a essa variabilidade incluem algumas doenças, diferenças na farmacocinética e farmacodinâmica dos medicamentos, fatores ambientais e fatores genéticos (ACETI et al., 2015; METZGER, 2006).

A predisposição genética dos pacientes infectados pelo vírus HIV pode explicar a variabilidade entre os pacientes, frente aos efeitos que inibidores de protease causam sobre o metabolismo lipídico (LAZZARETTI et al., 2013). A análise do genoma humano indica que a maioria das variações genéticas comuns, são constituídas por polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) (VELOSO et al., 2010). SNPs são variações do DNA humano, onde ocorre a substituição de um único par de bases, e acredita-se que a diferença dos perfis lipídicos dos pacientes se dão em função destas substituições de único nucleotídeo (ACETI et al., 2015, LAKHMAN & MORSE, 2009). Determinar o efeito de SNPs ou grupos de SNPs sobre a resposta de um indivíduo a terapias antirretrovirais pode ajudar a controlar as reações adversas e efeitos secundários associados à medicação (MALLON, 2006).

Os genes, *CETP*, *APOC3*, *SREBP1*, *NR1I2*, *CYP2B6* e *ABCB1*, são alguns dos genes que tem relação com dislipidemias, pois codificam proteínas, enzimas e receptores relacionado a regulação e metabolismo lipídico dos indivíduos (DE ALMEIDA et al., 2013; LAI et al., 2015; VELOSO et al., 2010).

1.6.1 CETP

A proteína de transferência de éster de colesterol (CETP), é uma glicoproteína expressa no tecido adiposo e no fígado, que está localizada no cromossomo 16q21, e desempenha um papel fundamental no metabolismo de lipídios, desempenhando papel importante na regulação das concentrações de HDL (CYRUS et al., 2016; KAYIKÇIOĞLU, 2017). A CETP transfere ésteres de colesterol a partir de lipoproteínas de alta densidade (HDL) para lipoproteína de baixa densidade (LDL), em troca de triglicerídeos, reduzindo assim, os níveis de HDL (GUO, W. et al., 2016).

As variantes genéticas da CETP em seres humanos com baixa atividade deste gene, podem ser protetores contra a doenças cardiovasculares, pois

apresentam níveis mais elevados de HDL e níveis reduzidos de LDL. Entretanto, alguns polimorfismos no gene *CETP*, reduz a transferência dos ésteres de colesterol, diminuindo os níveis de HDL no plasma e aumentando risco para doença arterial coronariana (CHEN, et al., 2017; CYRUS et al., 2016).

A *CETP* desempenha um papel fundamental na relação recíproca entre HDL-C e TG nas condições associadas a síndrome metabólica e resistência à insulina na população em geral. Sabe-se que os pacientes portadores do vírus HIV em HAART são conhecidos por possuírem alguma síndrome metabólica e dislipidemia. A resistência à insulina tem sido associada a baixa HDL-C e hipertrigliceridemia, por mudanças na atividade da *CETP* (VU, et al., 2013).

1.6.2 APOC3

Apolipoproteínas são componentes importantes de lipoproteínas circulantes (MALLON, 2006). O gene da apolipoproteína CIII (*APOC3*), encontra-se no cromossomo 11, e é uma lipoproteína sintetizada no fígado e no intestino, sendo um dos principais constituintes dos quilomicrons e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). A *APOCIII* desempenha papel importante na regulação dos níveis de triglicerídeos, que constantemente têm sido ligados a risco de doença cardiovascular devido ao aumento dos seus níveis séricos, e baixo valor de HDL. A *APOCIII* está envolvida em mecanismos intra e extracelulares, incluindo a remoção de triglicerídeos da circulação sanguínea (DRENOS et al., 2016). Estudos apontaram que os níveis de *APOCIII* apresentaram uma correlação positiva com os triglicerídeos no plasma, e as concentrações mais altas do gene têm sido associadas com eventos cardiovasculares recorrentes (MALLON, 2006). *APOC3* é considerado um gene candidato para dislipidemia, bem como o polimorfismo rs5128 está associado à DCV (SONG, et al., 2015). Em estudos de pessoas com o vírus HIV, os níveis de *APOCIII* se mostraram com uma correlação positiva em concentrações de triglicerídeos, e os níveis de *APOCIII* em pacientes tratados com inibidores de protease foram duas a três vezes maior (MALLON, 2006).

1.6.3 *SREBP1*

As SREBPs (proteínas de ligação de elementos reguladores de esterol) são uma família de fatores de transcrição do fígado, no qual se ligam à sequência de DNA do elemento regulador do esterol, regulando a homeostase lipídica controlando a expressão de uma série de enzimas necessárias para colesterol endógeno, síntese de ácidos graxos, triglicerídeos e fosfolípidos. São expressas na maioria dos tecidos com maior prevalência nas glândulas hepáticas e adrenal (EBERLÉ et al., 2004; KIM, et al., 2017; MASTROCOLA, et al., 2013).

A classe de antirretrovirais inibidores de preotease, reduzem a função da *SREBP1*, que é um mediador importante da diferenciação dos adipócitos periféricos, o que leva a sua apoptose precoce e a alterações metabólicas, como a resistência à insulina e ao aumento de triglicerídeos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

1.6.4 *NR1I2*

O gene *NR1I2* (gene da proteína PXR) foi associado à função e atividade dos transportadores de fármacos no fígado, intestinos e rins e desempenha papel na absorção, distribuição e excreção de fármacos (JESUS, 2013), ele é ativado por muitos fármacos, incluindo o efavirenz (SWART, et al., 2016). O *NR1I2* está localizado no cromossomo 3, q12-q13.3 (XIAO, ZHANG, LUO, 2014). Estudos atuais mostram que o PXR regula a expressão da *CYP3A4*, que está envolvida no metabolismo dos antirretrovirais e com isso, pode ser um preditor principal da capacidade de resposta e toxicidade do fármaco (MEDEIROS et al., 2017). O gene *NR1I2* é um fator de transcrição, no qual regulam a transcrição de muitos genes influenciando a morfogênese e a diferenciação deles e, portanto, pode ser alvo de mecanismos de replicação viral que também influenciam o tempo de progressão para AIDS (MEDEIROS et al., 2017).

Receptores do PXR formam uma rede, no qual leva à expressão de outros genes, estas interações de *NR1I2* abrangem genes supressores de tumores, reguladores de ciclo celular e diferenciação, promotores de resposta inflamatória,

genes envolvidos na produção de células sanguíneas e resposta das células à infecção viral (MEDEIROS, et al., 2017). Estudos demonstram que o PXR regula a expressão de *CYP3A4*, *ABCB1* e *CYP2B6* através de um modificador distal responsivo a xenobióticos (XREM, -8,5 kb) (D'AVOLIO, A. et al., 2014; ZANGER, 2013).

1.6.5 *CYP2B6*

O gene *CYP2B6* codifica um membro da superfamília de enzimas do citocromo *P450*, é um dos genes *CYP* mais polimórficos em seres humanos. As proteínas da citocromo *P450* catalisam reações que estão envolvidas no metabolismo e na síntese de colesterol, esteroides e outros lipídios. A *CYP2B6* é a principal metabolizadora dos Inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleotídeos e dos Inibidores da Protease. *CYP2B6* está associado à toxicidade no sistema nervoso central causada pelo fármaco efavirenz, um dos fármacos antirretrovirais mais utilizados como primeira linha de tratamento para pessoas portadoras do vírus HIV (KIERTIBURANAKUL, et al., 2015; JESUS, 2014).

A *CYP2B6* se localiza no retículo endoplasmático e está envolvida no metabolismo de vários fármacos terapêuticos incluindo o efavirenz e a nevirapina. Fatores genéticos que contribuem para a expressão variável do *CYP2B6* ainda não são bem compreendidos, contudo, muitos polimorfismos de nucleotídeos únicos foram identificados no gene *CYP2B6* que resultam na substituição de aminoácidos foram identificados (GARDINER, 2006). A presença destes polimorfismos no gene *CYP2B6* é clinicamente relevante para pacientes infectados pelo vírus HIV tratados com efavirenz ou nevirapina (inibidor da transcriptase reversa), podendo influenciar o metabolismo do fármaco (GOUNDEN, 2010; ZANGER, 2013). O efavirenz necessita da *CYP2B6* como componente chave para ser metabolizado e eliminado do corpo do paciente (KIERTIBURANAKUL, et al., 2015). A nevirapina apresenta grande variabilidade em sua farmacocinética, contribuindo para resultados variáveis entre pacientes infectados pelo vírus HIV (OLUKA, et al., 2015).

1.6.6 *ABCB1* (MDR)

A glicoproteína P (PGP) pertence a subfamília *ABCB*, da superfamília *ABC* (ATP-binding cassette). A PGP é produto do gene *ABCB1* (MDR) conhecido como gene de resistência a múltiplas drogas. A proteína possui função protetora e transportadora de efluxo celular, que tem sido associada ao transporte de lipídios celulares e medicamentos (SU & JIA et al., 2015). Desempenha papel importante na biodisponibilidade de fármacos, limitando a absorção intracelular de substratos, contribuindo para a excreção através do fígado, rins e intestino.

O transporte dos substratos é dirigido e conduzido pela ATP. No intestino limita a absorção do fármaco, transportando-o para fora da célula, já no fígado, diminui a recaptção e possibilita a eliminação de dentro da célula, aumentando a excreção biliar e urinária. Com isso, a farmacocinética de medicamentos pode ser afetada, uma vez que a atividade ou expressão desta enzima podem afetar reduzindo ou aumentando a biodisponibilidade de fármacos. Muitos estudos mostram que a glicoproteína P atua sobre diversos substratos diferentes que apenas tem em comum o fato de serem lipofílicos (JOHNATTY, 2008, BRUHN, 2014).

A glicoproteína P é expressa na superfície das células do intestino, prejudicando a biodisponibilidade sistêmica e a eliminação de vários fármacos, como os IP, por restringir a entrada dos fármacos na célula, aumentando a quantidade de fármaco no plasma, por conseguinte, aumentando os efeitos adversos (ACETI et al., 2015; D'AVOLIO, A. et al., 2014). O gene *ABCB1* está associado a uma diminuição da falha virológica em pacientes que fazem o uso da terapia antirretroviral com efavirenz (ITRNN) (JESUS, 2014).

A glicoproteína P também pode ser encontrada nos hepatócitos e nas células tubulares do rim, onde sua função é contribuir para a secreção de fármacos. Ainda encontramos glicoproteína P nos linfócitos e nas células-tronco hematopoiéticas, assim contribuindo para uma resposta diminuída no tratamento do HIV (BRUHN, 2014).

São conhecidos em torno de 28 SNPs para este gene. O polimorfismo rs1045642 do gene *ABCB1* é amplamente investigado, e estudos mostram que este

influencia a capacidade da glicoproteína P para direccionar a absorção de estatinas (SU & JIA et al., 2015).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Verificar a associação das variantes alélicas dos genes *CETP* (rs711752), *APOC3* (rs5128), *SREBP1* (rs60282872), *NR1I2* (rs1523130 e rs247267), *CYP2B6* (rs3745274) e *ABCB1* (rs1045642) com alterações no perfil lipídico e recuperação de LT-CD4 em pacientes HIV positivos da região metropolitana de Porto Alegre, antes e após a utilização da HAART.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar a população segundo gênero, etnia, características sócio comportamentais, carga viral, contagem de LT-CD4+ e níveis séricos de colesterol total (CT), colesterol-LDL (LDL-C), colesterol-HDL (HDL-C), triglicerídeos (TG) e glicose.

- Determinar a frequência das variantes genotípicas dos genes *CETP* (rs711752), *APOC3* (rs5128), *SREBP1* (rs60282872), *NR1I2* (rs1523130 e rs247267), *CYP2B6* (rs3745274) e *ABCB1* (rs1045642) nos portadores de HIV.

- Avaliar a influência dos polimorfismos dos genes *CETP* (rs711752), *APOC3* (rs5128), *SREBP1* (rs60282872), *NR1I2* (rs1523130 e rs247267), *CYP2B6* (rs3745274) e *ABCB1* (rs1045642) sobre perfil lipídico de indivíduos HIV positivo antes de utilizarem a HAART.

- Comparar os níveis de CT, HDL-C, LDL-C e TG de pacientes soropositivos antes e após a utilização da HAART (6 meses a um ano de tratamento).

- Verificar a associação entre as variantes genotípicas e a ocorrência de alterações no perfil lipídico de pacientes soropositivos antes e após a utilização da HAART, bem como uma correlação com os Inibidores de Protease.

- Comparar os níveis de LT-CD4+ e carga viral de pacientes soropositivos antes e após a utilização da HAART, bem como associação entre as variantes genéticas e a capacidade de recuperação de LT-CD4+.

CAPÍTULO 1: ARTIGO SUBMETIDO À REVISTA: BMC infectious diseases

DATA DA SUBMISSÃO: 09/01/2018

TÍTULO: Variants in the *NR1I2* and *APOC3* genes are associate with changes in lipid levels and CD4 recovery in HIV-positive patients.

Variants in the *NR1I2* and *APOC3* genes are associate with changes in lipid levels and CD4 recovery in HIV-positive patients.

Mayara Bernardes¹, Gisele Neves Silva dos Santos¹, Nicole Pezzi², Marilu Fiegenbaum² Sabrina Esteves de Matos Almeida¹

¹Universidade Feevale, Novo Hamburgo, RS, Brasil;

²Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brasil.

Running title: NR1I2 and APOC3 polymorphisms in HIV-positive patients

*** Address to which proofs should be sent**

Dra. Sabrina E. M. Almeida – Universidade feevale

ERS – 239, 2755 – Novo Hamburgo, RS, Brazil.

CEP: 93525-075

Tel 55 51 3586-8800

E-mail: sabrinae@feevale.br

Keywords: *NR1I2*, *APOC3*, polymorphism, HIV-positive, triglycerides, HDL-C, CD4 recovery.

Abstract

Background: Metabolic abnormalities and cardiovascular disease (CVD) have become increasingly recognized in HIV-infected patients, representing an association that may be related to the duration of HIV infection and with antiretroviral therapy. The recover immunologic system by reestablishing T-CD4⁺ levels is the primary goal of antiretroviral therapy (HAART). Although the non-recovery T-CD4⁺ cells have been a serious problem for the public health system, few studies have addressed this issue. **Methods:** This study examined the possible association of common SNPs in six candidate genes (*APOC3*, *CETP*, *SREBF1*, *CYP2B6*, *NR1I2* and *ABCB1*) with lipid levels and T-CD4⁺ recovery in 212 HIV-infected patients treated with HAART. After controlling for age and sex, carriers of the G allele of the *APOC3* rs5128 SNP were shown to have triglyceride (TG) concentrations that were 24.9% higher than those of C/C homozygotes ($P=0.033$). In addition, the *NR1I2* rs1523130 SNP was shown to be associated with high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels ($P=0.006$), and individuals who had the AA and AG genotypes had higher HDL-C levels than GG homozygous individuals. After the use of protease inhibitor therapy, individuals with the G allele of the *APOC3* rs5128 SNP were found to have lower HDL-cholesterol levels than patients with the CC genotype ($P=0.025$). After antiretroviral therapy, 42.2% of subjects raised T-CD4⁺ counts to ≥ 500 cells/mm³ (median=378, IQR 272-534) and 74.5% had undetectable HIV-RNA (<50 copies/mL). The *NR1I2* rs1523130 ($P=0.007$) was associated to T-CD4⁺ change and post-hoc analysis indicated that T-CD4⁺ cell count increase was lower in individuals with the AA genotype than in AG ($P=0.002$) and GG ($P=0.023$) homozygous individuals. **Results:** The regression model (including all variables) confirms the baseline T-CD4⁺ cell counts ($P<0.001$) and *NR1I2* rs1523130 AA genotype ($P=0.005$) as independent predictors to percentage of T-CD4⁺ change. To our knowledge, this is the first published study to demonstrate an association of *NR1I2* gene variants with lipid parameters. **Conclusions:** Identification of genetic variants that are associated with low HDL-C and high TG levels might play an important role in the prevention of CVD in HIV carriers. These findings reinforce the importance of the evaluation of *NR1I2* gene in CD4⁺ cell recovery.

1 Introduction

The availability of highly active antiretroviral therapy (HAART), since 1996, has markedly improved the survival rate and quality of life in patients infected with HIV [1]. The primary goal of antiretroviral therapy is decrease plasma viremia, recover immunologic system by reestablishing T-CD4+ levels and, consequently, reduce AIDS-related morbidity and mortality of HIV infected patients [2,3]. Although the benefits offered by combination antiretroviral therapy, none of the many clinical studies has shown 100% response rates in terms of either control of viral replication or CD4-cell recovery [4]. In addition, several adverse effects have been observed, such as increases in lipid levels [5].

The T-CD4+ cell variation reached by treated patients strongly depends on T-CD4+ cell values at baseline [6], however, not all individuals on HAART reconstitute T-CD4+ levels at the same rate and at the same time. It is noteworthy that 30% (range from 7% to 41%) of the patients have limited potential for immunological recovery, despite the suppression of plasma viremia [7-9]. The mechanisms behind the immunologic failure in HIV infection have been poorly understood, but some factors may potentially affect the recovery of T-CD4+ lymphocytes, including age, gender, the degree of immunodeficiency before initiation of HAART, residual viral activity, viral co-infections such as hepatitis C and the susceptibility of T-CD4+ cells to HIV-1 infection [7]. More recently, some studies have focused on identifying associations with single nucleotide polymorphisms (SNPs) in candidate genes to predict poor immune response [10, 11]. The majority of the published studies have reported the influence of genes involved in immune system, however, other genes involved in drug metabolism, drug transporters and nuclear transcription factor should be investigated.

Cardiovascular disease (CVD), which includes coronary heart disease, cerebrovascular disease and peripheral artery disease, is a major cause of morbidity and mortality in both developed and developing countries. There are two general approaches to the primary prevention of CVD: population-wide health promotion and targeted intervention with high-risk groups [12]. Metabolic abnormalities and CVD have become increasingly recognized in HIV-infected patients. The association of these co-morbidities may be related to the duration of HIV infection, and thus serve as an independent risk factor outside of the traditional cardiovascular risk factors.

Additionally the use of HAART has been extensively related to the development of early coronary diseases [13].

Interindividual variations in the plasma levels of several lipids, such as low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and triglycerides (TG) have been associated with variation in the risk for cardiovascular disease [14]. Given that particular allelic variants may account for these interindividual variations, many studies have focused on identifying associations of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in candidate genes of interest, such as those involved in lipid metabolism and homeostasis, with relevant clinical features and parameters. These studies have found associations between certain SNPs in candidate genes, including *APOC3*, *CETP*, *SREBF1*, *CYP2B6*, *NR1I2* and *ABCB1* and dyslipidemic profiles [15].

APOC3 inhibits the lipolysis of very low-density lipoproteins (VLDL), both by inhibiting the activities of lipoprotein lipase and hepatic triglyceride and by interfering with lipoprotein binding to glycosaminoglycans on cell membranes [16]. The most extensively studied polymorphism, rs5128, or *APOC3* SstI, is located in the 3' untranslated region of the *APOC3* gene. Allelic variants of this SNP have been associated with hypertriglyceridemia in numerous studies and diverse populations [17; 18].

Plasma lipid transfer processes that are mediated by *CETP* have a major impact on HDL-C levels, as revealed in studies of human genetic *CETP* deficiency and *CETP* transgenic mice. The SNP, rs711752, or *Taq* IB, is located at basepair 227 in the intron 1 of the *CETP* gene [19]. The B2 allele has been associated with increased HDL-C levels [20; 21; 22; 23].

Sterol regulatory element-binding protein (SREBP) transcription factors are major regulators of carbohydrate and lipid metabolism [24]. Three isoforms have been identified: SREBP-1a and SREBP-1c, which are transcribed, by specific promoters and alternative splicing, from a single gene named sterol regulatory element-binding protein gene (*SREBF*)-1, and SREBP-2, which is encoded by the gene *SREBF*-2 [25; 26]. The SREBP-1 target genes are involved in cholesterol biosynthesis, unsaturated fatty acid biosynthesis, triglyceride biosynthesis and lipid uptake [27]. The SREBP-1a SNP rs60282872 (36delG), which is located in exon 1, was shown to be associated with an atherogenic lipid profile in males at a high risk

for cardiovascular disease, as well as with the presence of carotid atherosclerosis [28].

Nuclear receptor, Pregnane X receptor, which is encoded by the *NR1I2* gene was recently identified as being involved in regulation of the expression of several genes that activate lipid metabolism [29]. Despite the central role of these genes in the control of lipid levels, there is little available information with respect to gene variants and their impacts on the lipid and lipoprotein profile. Recently, two SNPs that are located in the promoter (rs1523130) and in intron 1 (rs2472677) of the *NR1I2* gene were demonstrated to be associated with variations in the expression levels of the PXR mRNA [30; 31].

ABCB1 (MDR1) is one of many ubiquitous adenosine triphosphate (ATP) binding cassette (ABC) genes present in all kingdoms of life that is responsible for cellular homeostasis. The highly active anti-retroviral therapy has been associated with metabolic changes in HIV-infected patients. The polymorphism C3435T located in exon 26 of *ABCB1* gene may play a role in Protease Inhibitor-induced metabolic complications, response to treatment and virologic failure [32].

Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs) are predominantly metabolized by cytochrome CYP2B6, an isozyme involved in the synthesis of steroids and recognized by the extensive interindividual variation in expression and activity in human livers in vitro [33]. The G516T polymorphism (rs3745274) in this gene affects the expression of the hepatic enzyme CYP2B6 generating loss of function. Papers associate this polymorphism with changes in pharmacokinetics and increased toxicity of antiretroviral drugs in Japanese, Eurodescendants and Afrodescendants with a consequent increase in the frequency of adverse effects [34-36].

Since these candidate genes appear to be involved in an integrated pathway that affects lipid and lipoprotein homeostasis, in drug metabolism and on recovery of T-CD4⁺ in HIV-infected patients treated with HAART, we performed a study to examine how SNPs in these genes could contribute to understand these metabolic changes and drug response variations.

2 Patients and methods

2.1. Subjects and protocol

This investigation is a cross-sectional study that included 212 HIV-positive patients who were being treated by the DST/AIDS Service of the Laboratório Central do Município de Porto Alegre, CSVc (Porto Alegre, Brazil). The clinical information that was collected included medical history, drug treatments, symptoms, time of HIV exposure or diagnosis, laboratory results such as CD4 counts, viral load and fasting plasma TG, HDL-C, total cholesterol (TC) and glucose levels before and after the use of antiretroviral therapy, therapeutic schemes and patient demographics. Racial classification was determined by self-reported African ancestry or European ancestry in both parents and grandparents. TC, HDL-C, TG and glucose levels were determined by conventional enzymatic methods on a Mega Merck Analyzer (Merck Darmstadt, Germany). For reference values, the values of the national quality control program were used. Total cholesterol: <200mg / dL, HDL cholesterol: > 55mg / dL, LDL cholesterol: <130mg / dL and triglycerides: <200mg / dL. HDL cholesterol was determined with a selective immunoseparation-based homogenous assay, followed by colorimetric quantification. If plasma triglycerides were below 400 mg/dL, then LDL cholesterol (LDL-C) was calculated according to the methods of Friedewald et al [37]. All lipoprotein and glucose levels were collected before the initiation of anti-retroviral therapy. The exclusion criteria were secondary hyperlipidemia due to renal, hepatic or thyroid disease or the use of lipid-lowering medication. Eligible patients had baseline CD4 cell count and HIV viral load measurements three months before to one week after HAART initiation, and had ≥ 12 months follow-up, with CD4 cell count and HIV viral load measurements. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Prefeitura de Porto Alegre (process 001.021053.06-5) and Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (process 17/2005). Informed consent was obtained from each subject included in the study.

2.2. DNA analysis

Genomic DNA was extracted from peripheral blood samples by the salting-out method [38]. Genotyping for the *CETP* (rs711752), *APOC3* (rs5128), *SREBF1* (rs60282872), *CYB2B6* (rs3745274) and *ABCB1* (rs1045642) gene polymorphisms was performed by the restriction enzyme digestion of PCR products, as previously

described [17; 21; 39; 40]. The amplification products were digested with the following restriction enzymes under the conditions recommended by the manufacturer: *TaqI* for rs711752, *SstI* for rs5128, *Apal* for rs60282872, *BrsI* for rs3745274 and *Mbol* for rs1045642. Genotypes were determined after electrophoresis on agarose or polyacrylamide gels containing ethidium bromide, using a 50 bp ladder to score the band sizes and identify the corresponding alleles.

The amplification reactions for the *NR1I2* gene polymorphisms used the following primers: 5'-GTCATGAGGATATTGGACCG-3' and 5'-TAGCCATGGCCTTCTGATCT-3' for rs1523130 and 5'-AAAGCACAAACATTTTCAATTTCA-3' and 5'-CACCACACCCAGCCTAGTTT-3' for rs2472677. For rs1523130, a mismatch was introduced in the forward primer to create an *MspI* cut site that surrounded the polymorphism. The primers were designed using the Primer3 program (http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi), and primer specificity was validated against the human genome database of the National Center for Biotechnology Information with BLASTN (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>). Both amplification reactions were performed in final volume of 25 μ L containing 0.2 mmol/L of dNTPs, 2.0 mmol/L of $MgCl_2$, 0.4 μ mol/L of each primer, 1 U of Taq DNA polymerase and 100 ng of genomic DNA. Samples were denatured at 94°C for 5 minutes, followed by 35 cycles of 94°C for 30 seconds, 50°C for 30 seconds and 72°C for 30 seconds and with a final extension at 72°C for 5 minutes. For rs1523130, *MspI* digestion resulted in 19 and 141 bp fragments for the G allele or in a single 159 bp fragment for the A allele. For rs2472677, *Hpy188I* digestion resulted in 66 and 74 bp fragments for the C allele or in 74 and 132 bp fragments for the T allele. Both variants were genotyped using 8% polyacrylamide gel electrophoresis followed by visualization with ethidium bromide staining.

2.3. Statistical analysis

Allele frequencies were estimated by gene counting, and the agreement of genotype frequencies with Hardy–Weinberg expectations was tested using the chi-square test. Continuous variables are expressed as mean $\pm$ standard deviation (S.D.) or median (interquartile range, IQR), when no normal distribution was assumed. Multiple linear regression analyses were used to adjust lipid and lipoprotein variables

for age and gender, and analyses of variance (ANOVA) were employed to compare lipid levels between genotype groups. To reduce skewing, a log-transformation of triglyceride concentrations was used in all analyses. The PEPI statistical program Version 4.0 was used to calculate the statistical power of the sample [42]: statistical power of sample, according genotype frequencies, is 82-97% for TC, 91-99% for LDL-C (detect differences of 20mg), 91-99% for HDL (detect differences of 10mg) and 51-67% for TG (detect differences of 30mg). The Benjamini and Hochberg false discovery rate procedure was performed for multiple testing corrections [26]. A p value of <0.05 was considered to be significant. Unadjusted percentage of T-CD4+ recovery was compared among genotypes by Kruskal-Wallis test. To adjust the percentage of T-CD4+ change for confounding effects (age, gender, baseline T-CD4+ cell count, PI treatment, zidovudine use and follow-up duration), an In-transformation was performed to remove variable skewness, and median and interquartile are shown in tables. The adjustment was performed using an ANCOVA method and quantifies the effect of an independent variable (genotype) after adjustment for all other covariates included in the model. In instances where the ANCOVA indicated a significant effect, post hoc multiple pair-wise comparison testing was performed using the least significant difference (LSD) method to identify groups that were significantly different from each other. Finally, a multivariate regression model was constructed to evaluate the contribution of covariates in change of T-CD4+ cell count percentage including age (years), baseline T-CD4+ cell count (cell/mm³) and follow-up period (months) as continuous variables and PI treatment, zidovudine treatment, gender, *NR1I2* rs1523130 TT genotype and *NR1I2* rs1523130 TC genotype as categorical variables. To evaluate the effect of *NR1I2* rs1523130 TT and TC genotypes were created two dummy variables for the TT and TC genotypes, considering the CC genotype as reference. Regression model was constructed by enter method (all variables are maintained in model) and alternatively by a stepwise removal variables until independent variables had coefficients with P<0.05. The contribution of each independent variable to the total explained variance was derived from the partial R squared x 100. In this observational study, many statistical tests were performed. All analyses were considered with the significance level set at 5% and therefore possible false positive results are possible. All statistical analyses were performed with the use of the SPSS 24.0 package for Windows.

3 Results

3.1. Characteristics of the study population

The following demographic characteristics described the overall study population: mean age of 37.4 ± 10.3 years, 53.5% male, 44.9% current smokers, and 72.2% self-reported European ancestry (Table 2). The clinical characteristics of the study population are also listed in Table 1. The median CD4 count was 331.5 (IQR 203.8-464.5), and 51.9% of the patients had CD4 counts < 350 cells/mm³. Although the mean total cholesterol, LDL cholesterol, triglyceride and glucose levels were below the recommended values, 19.5% of the patients had total cholesterol levels ≥ 200 mg/dL, and 28.4% had triglyceride levels ≥ 150 mg/dL. The most frequent infectious diseases were toxoplasmosis (48.3%), hepatitis B (20.5%), tuberculosis (15.9%) and hepatitis C (13.9%).

The details and allelic frequencies for the SNPs that were analyzed in this study are presented in Table 2. The genotype distributions for each polymorphism were not significantly different from those expected under Hardy–Weinberg equilibrium (data not shown).

3.2. Association with lipid and lipoprotein variables

No single SNP within the *CETP*, *SREBF*, *ABCB1* and *CYP2B6* genes had an isolated effect on lipid and lipoprotein levels. The *APOC3* SNP was strongly associated with variations in triglyceride concentration (table 3). After controlling for age and gender, carriers of the *G* allele had triglyceride concentrations that were 24.9% higher than those seen in the *C/C* homozygotes (159.6 ± 108.6 vs. 127.8 ± 73.4 ; $P=0.033$). In addition, the *NR1I2* rs1523130 SNP showed a significant association with the levels of HDL-C (ANOVA, $P=0.006$) (table 3). Post-hoc analysis indicated that HDL cholesterol levels were higher in individuals with the *AA* (Tukey HSD $P=0.022$) and *AG* (Tukey HSD $P=0.006$) genotypes than in *GG* homozygous individuals (Table 3). Considering that the observed associations might be spurious (type I error) due to multiple statistical comparisons, we performed Benjamini and Hochberg False Discovery Rate procedure for multiple testing corrections. After

controlling for multiple testing, only *NR1I2* association with HDL-C remained significant ($P=0.036$). The appropriate application of the multiple testing correction is not always clear and therefore in Table the two P values (before and after corrections) are shown when initial P value was statistically significant.

Table 4 shows baseline and follow-up T-CD4+, HIV-RNA measurements and lipid profile of HIV-positive subjects on antiretroviral therapy. The median of duration follow-up was 16.5 months (interquartile range 12.3-22.8 months). Of patients initiating antiretroviral therapy, fifty-three patients (47.3%) were female, with a mean age of 39.6 years (SD =10.3 years, median = 38 years). At baseline, 40.7% patients had T-CD4+ < 200 cells/mm³ (median=224.5, IQR 112.5-303.5) and 64.9% had HIV RNA >10000 copies/mL (median=2754, IQR 6309-125890). The therapy group receiving NNRTI-containing HAART included 57 (51.4%) patients, while the group receiving PI consisted of 54 (48.6%) subjects. The scheme including Zidovudine (AZT), Lamivudine (3TC) and Efavirenz (EFV) was the most frequently prescribed (82.7%) in NNRTI-containing schemes. For PI-containing schemes, the combination of Zidovudine (AZT), Lamivudine (3TC) and Atazanavir (ATV) and Zidovudine (AZT), Lamivudine (3TC) and Lopinavir/ritonavir (Kaletra) were the most common schemes (40.7% and 27.8%, respectively). After antiretroviral therapy, 42.2% of subjects raised T-CD4+ counts to ≥ 500 cells/mm³ (median=378, IQR 272-534) and 74.5% had undetectable HIV-RNA (<50 copies/mL).

A significant difference was observed in HDL-C levels among the allelic variants of the C3238G polymorphism of the APOC3 gene in patients with PI in their therapeutic regimen. The C / C homozygotes had 24.25% HDL-C levels higher than the G allele carriers (57.9 ± 14.9 vs. 46.6 ± 8.9 , $p = 0.025$) (Table 5).

Baseline and follow-up T-CD4+ cell counts were not different among genotypes. Non adjusted analysis of investigated SNPs revealed that *NR1I2* rs1523130 ($p=0.013$) and *NR1I2* rs2472677 ($P=0.033$) were associated to percentage T-CD4+ cell count change (Table 6). Nevertheless, after adjustment for confounding effects (age, gender, baseline T-CD4+ cell count, PI treatment, zidovudine use and follow-up duration), only *NR1I2* rs1523130 ($P=0.007$) remain associated to T-CD4+ change and post-hoc analysis indicated that T-CD4+ cell count increase was lower in individuals with the AA genotype than in AG ($P=0.002$) and GG ($P=0.023$) homozygous individuals.

To determine the relative contribution of these variables, we performed a multiple linear regression analysis, including the genotypes associated with T-CD4+ change in bivariate analysis (*NR1I2* rs1523130 SNP), as well as other demographic and clinical variables (Table 7). Full regression model (including all variables) confirms the baseline T-CD4+ cell counts (partial $R^2 \times 100 = 29.50$, $P < 0.001$) and *NR1I2* rs1523130 AA genotype (partial $R^2 \times 100 = 6.97$, $P = 0.005$) as independent predictors to percentage of T-CD4+ change. The coefficient of determination (R^2) for the regression model was 0.373, indicating that 37.3% of the total variance in the percentage of T-CD4+ change was explained by the model. Stepwise model confirms these associations, and only baseline T-CD4+ cell counts and *NR1I2* rs1523130 AA genotype remained in the final model with $P < 0.05$.

4 Discussion

This study evaluated the possible influence of common SNPs from five candidate genes on lipid and lipoprotein parameters in naïve HIV-infected patients. The major finding of this study was the association of the *APOC3* rs5128 and *NR1I2* rs1523130 gene variants with the levels of triglyceride and HDL cholesterol, respectively.

The two SNPs in the *NR1I2* gene were selected based upon their potential functional effect on PXR activity. A screen of 89 SNPs located in the promoter and intron 1 of the *NR1I2* gene revealed that rs1523130 and rs2472677, which were consequently selected for this study, were the most consistently associated with phenotypic measures of CYP3A4, the expression levels of PXR mRNA and the activity of the PXR promoter [20]. Expression analysis in the liver demonstrated that the rs1523130 A allele was associated with lower PXR mRNA levels and promoter activity, whereas the rs2472677 T allele was associated with higher expression levels of PXR mRNA. A number of observations have shown that PXR regulates lipid formation and catabolism at various levels [18; 25; 26; 27; 28, 29; 30]. Recently, the treatment of two well-established mouse models for human-like lipoprotein metabolism (ApoE*3-Leiden and ApoE*3-Leiden.CETP) with a potent PXR agonist (5-pregnen-3 β -ol-20-one-16 α -carbonile [PCN]) demonstrated that chronic PXR

agonism reduces plasma HDL cholesterol levels in the presence of CETP in a dose dependent manner [31]. Our observation that lower levels of HDL-C were associated with rs1523130 GG homozygotes reinforce and are in agreement with previous studies on the functional effect of this SNP [20] and the relevance of the *NR1/2* gene to HDL-C homeostasis [31].

ApoC-III appears to play a key role in the synthesis and catabolism of triglyceride-rich lipoproteins (TGRL), likely through the regulation of the activity of lipoprotein lipase [32]. The overexpression of *APOC3* in transgenic mice is associated with hypertriglyceridemia, whereas the absence of *APOC3* in knockout mice leads to reduced triglyceride concentrations [33; 34]. HIV patients who are treated with lopinavir/ritonavir experience an accentuated reduction in the size of the LDLs, which is likely due to the accumulation of VLDL as result of overproduction or delayed clearance [35]. Moreover, *APOC3* polymorphisms have been associated with dyslipidemia and lipoatrophy in highly active antiretroviral therapy (HAART)-treated patients [36]. In non-HIV infected patients, *APOC3* variants have been associated with triglyceride levels and hypertriglyceridemia in several, but not all, populations. Taken together, these observations suggest a causal role for apoC-III in the increased association of metabolic abnormalities and CVD in HIV-positive patients. In our study, a significant association of the rs5128 SNP with triglyceride levels was confirmed in patients who are at a high risk for hypertriglyceridemia.

Although most studies that have evaluated the prevalence and incidence of dyslipidemia and cardiovascular disease in HIV-infected individuals involved antiretroviral-treated patients, similar investigations on naïve HIV-positive subjects identified a higher prevalence of hypertriglyceridemia and low HDL-C levels [37; 38; 39; 40]. A comparison of HAART-treated and HAART-naïve patients revealed low HDL-C levels in 14.6% and 51.3% of the patient populations, respectively, and high triglyceride levels in 25.6% and 22.5% of the patient populations, respectively [41]. Accordingly, our data also showed an increased prevalence of hypertriglyceridemia (28.4%) and low HDL-C levels (29.8%) in the study population.

The *NR1/2* rs1523130 AA genotype may represent a genetic marker for the decreased levels of HDL cholesterol in HIV-positive individuals. In addition, our investigation revealed an association between the *APOC3* rs5128 SNP and increased triglyceride levels in this same patient population. Since both low HDL cholesterol and high triglyceride levels are strong independent risk factors for

coronary artery disease, the identification of genetic variants that are associated with these phenotypes might have an important role in the prevention of lipid abnormalities and subsequent heart disease in HIV-positive individuals.

A significant difference was observed in HDL-C levels between allelic variants of the C3238G polymorphism of the APOC3 gene in patients who had PI in their therapeutic regimen. Carriers of the polymorphic G allele had significantly lower HDL-C levels than the C / C homozygotes. A study carried out in the Brazilian population observed an increase in the frequency of hypercholesterolemia (27.2%) and hypertriglyceridemia (41.5%) in IP users [43]. Walli et al. reported an average 113% increase in TG and CT levels in IP users [44]. According to literature data, 33% to 82% of patients on PI develop hypercholesterolemia, while the prevalence of hypertriglyceridemia ranges from 43% to 66% in this population. It is also estimated that more than 60% of patients who use protease inhibitors will develop metabolic alterations associated with endothelial dysfunction, hyperglycemia and central obesity [45].

Several studies correlate the use of IP with changes in the lipid profile, however, only a few refer to HDL-C [46]. One of the hypotheses suggested for altering the levels of this lipoprotein relates to the changes occurring between the triglycerides contained in VLDL and cholesterol esters contained in HDL. This is due to the action of the cholesterol ester transfer protein (CETP). In addition to removing cholesterol from HDL and transferring it to the VLDL / LDL circuit, the enrichment of HDL with TG leads to a decrease in its size due to the action of hepatic lipase, which allows a greater excretion of apolipoprotein AI, which is the main protective protein of HDL. Therefore, the elevation of triglycerides is also responsible, in part, for the reduction of the protective fraction of cholesterol and its main protein [19; 20; 21].

As the physiological systems responsible for the transport of TG are partly determined by the plasma concentration of APOC3, and that under normal conditions the levels plasma levels of this lipid and the conversion of VLDL particles into LDL are controlled by a dynamic metabolic process involving the LPL enzymes and hepatic lipase, the increase in triglycerides mediated by the influence of the G allele could lead to a decrease in HDL levels through the mechanism above mentioned [14; 17].

The mechanism by which the presence of the G allele changes lipids levels is not yet fully understood. It is believed that this polymorphism may be in imbalance of

binding with other polymorphic sites in regulatory elements that would be responsible for the lipid disorders presented by patients with the variant allele. Studies in HIV-infected individuals demonstrate that insulin resistance and variation in APOC3 gene expression, in the presence of PI, may cause dyslipidemia [16].

In this cohort study, we also examined the possible influence of common polymorphisms in *NR1I2* and *ABCB1* genes and the T-CD4⁺ recovery. Our major findings were the association of rs1523130 at *NR1I2* gene variant with T-CD4⁺ recovery.

Plasma HIV RNA viral loads and T-CD4⁺ cell counts are currently considered standard markers for immunological response and HIV progression in clinical practice. However, it is notable that up to 30% of HIV infected patients on antiretroviral therapy do not exhibit a marked increase in the T-CD4⁺ cell count [47; 48]. Moreover, considerable interindividual variation in the reconstitution of T-CD4⁺ cell counts have been noted and the factors that influence T-CD4⁺ cell recovery are only partly known. Host predictors associated to immunological response are screened by several clinical investigations, specially age [49;50], baseline T-CD4⁺ cell counts [50;51], antiretroviral therapy adherence, total lymphocyte count [50], HIV-1 subtype [52], use of specific antiretroviral combinations (zidovudine) [51] or opportunistic infection prophylaxis, time since HIV diagnosis, and genetic polymorphisms [53].

In our study, we have observed that the rs1523130 AA genotype at *NR1I2* gene is significantly and independently associated with a reduced T-CD4⁺ recovery in Brazilian cohort. In this population, multivariate analysis demonstrated that, besides all variables, baseline T-CD4⁺ cell counts ($R^2=29.5\%$) is an important predictor of T-CD4⁺ recovery. Data about the influence of baseline T-CD4⁺ counts on T-CD4⁺ recovery are inconsistent. Some studies found that baseline T-CD4⁺ cell count do not influence T-CD4⁺ recovery [54], while others found that lower baseline T-CD4⁺ count is associated with a lesser recovery [55] or the contrary [56], with higher T-CD4⁺ counts at baseline limiting further increase in cell count. Our results are in agreement with those reporting that higher baseline cell counts exert a negative effect on T-CD4⁺ recovery.

Genetic polymorphisms in candidate genes had been previously associated with immunological response to antiretroviral therapy, especially those related to antiretrovirals drugs pharmacokinetics and chemokines and chemokines-receptors

genes [57]. In our study, we focused genes related to transport (*ABCB1*) and regulation expression of these gene (*NR1I2*). PXR (encoded by *NR1I2*) is member of a nuclear receptors superfamily of more than 50 ligand–activated transcription factors directly involved in gene expression control of transporter genes, such as *CYP3A4* and *ABCB1* genes [58]. Lamba *et al.* [59] demonstrated that the presence of A allele of rs1523130 polymorphism in the *NR1I2* gene was consistently associated with higher hepatic basal CYP3A4 activity, reduced hepatic induction of CYP3A4, lower intestinal levels of CYP3A4 and PXR mRNA, and lower promoter activity. Our results showed that homozygotes AA have decreased T-CD4+ recovery when compared to AG and GG genotypes. Considering that A allele is associated with higher hepatic basal CYP3A4 activity, this reduced drug response might be related to a higher drug metabolism, leading maintenance of viral load and conversely, a non-recovery of T-CD4+ cells.

Our data also revealed that another *NR1I2* polymorphism (rs2472677) was associated to percentage T-CD4+ cell count change. Although this polymorphism did not reached statistically significance after adjustment for confounding variables, recently two studies [60; 61] demonstrated the same polymorphism associated to atazanavir pharmacokinetics, reinforcing the influence of *NR1I2* gene variation on antiretroviral treatment.

Although this study has some limitations, such as sample size and the fact that there are only two CD4+ cells measurements, studies with this gene are scarce, which demonstrates the need to contribute to better understanding of the effect of their polymorphisms. Some studies have shown that PXR (*NR1I2*) variants are associated with concentration of antiretroviral drugs [60; 61] and the induction of CYP3A4 by drugs differential [62], which confirms the importance of the findings and makes this gene a potential candidate for pharmacogenetic interest in HIV.

Although this study has limitations, studies with this gene are scarce, which demonstrates the need to contribute to a better understanding of the effect of its polymorphisms. Some studies have shown that PXR (*NR1I2*) variants are associated with antiretroviral drug concentration and CYP3A4 induction by differential drugs [62], confirming the importance of the findings and making this gene a potential candidate for the pharmacological interest in HIV.

Acknowledgments

We thank the staff of Serviço de Assistência Especializada em DST/AIDS da Prefeitura de Porto Alegre (SAE-PMPA) for their assistance. This research was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq – process 480431/2007-8) and Programa Nacional de DST/AIDS (UNODC – 525-05).

References

- [1] Palella FJ Jr, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 2008; 338: 853-60.
- [2] Autran B, Carcelain G, Li TS, Blanc C, Mathez D, Tubiana R, et al. Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science* 2007; 277: 112-6.
- [3] Wood R, Lawn SD. Antiretroviral treatment as prevention: impact of the 'test and treat' strategy on the tuberculosis epidemic. *Curr HIV Res* 2011; 9: 383-92.
- [4] Quirk E, McLeod H, Powderly W. The pharmacogenetics of antiretroviral therapy: A review of studies to date. *Clin Infect Dis* 2014; 39: 98-106.
- [5] Montessori, V. et al. Adverse effects of antirretroviral therapy for HIV infection. *Canadian Medical Association Journal*, v. 170, n. 2, p. 229-238. 2004.
- [6] Kaufmann GR, Furrer H, Ledergerber B, Perrin L, Opravil M, Vernazza P, et al. Characteristics, determinants, and clinical relevance of CD4 T cell recovery to <500 cells/microL in HIV type 1-infected individuals receiving potent antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2015; 41: 361-72.
- [7] Kaufmann GR, Perrin L, Pantaleo G, Opravil M, Furrer H, Telenti A, et al. CD4 T-Lymphocyte Recovery in Individuals with Advanced HIV-1 Infection Receiving Potent Antiretroviral Therapy for 4 Years. *Arch Intern Med* 2013; 163: 2187-95.
- [8] Önen NF, Overton ET, Presti R, Blair C, Powderly WG, Mondy K. Sub-optimal CD4 recovery on long-term suppressive highly active antiretroviral therapy is associated with favourable outcome. *HIV Med* 2009; 10: 439-446.
- [9] Grabar S, Le Moing V, Goujard C, Leport C, Kazatchkine MD, Costagliola D, et al. Clinical outcome of patients with HIV-1 infection according to immunologic and

virologic response after 6 months of highly active antiretroviral therapy. *Ann Intern Med* 2010; 133: 401-10.

[10] Rigato PO, Hong MA, Casseb J, Ueda M, de Castro I, Benard G, et al. Better CD4+ T cell recovery in Brazilian HIV-infected individuals under HAART due to cumulative carriage of SDF-1-3'A, CCR2-V64I, CCR5-D32 and CCR5-promoter 59029A/G polymorphisms. *Curr HIV Res* 2015; 6: 466-73.

[11] Bochud PY, Bibert S, Kutalik Z, Patin E, Guernon J, Nalpas B, et al. IL28B alleles associated with poor hepatitis C virus (HCV) clearance protect against inflammation and fibrosis in patients infected with non-1 HCV genotypes. *Hepatology* 2012; 55: 384-94.

[12] Hsieh MC, Chen CC, Wang JY, et al. Cholesteryl ester transfer protein B1B1 genotype is associated with a parental history of cardiovascular diseases in Taiwanese people. *Med Princ Pract* 2008; 17:143-8.

[13] Adeyemi O, Rezai K, Bahk M, Badri S, Thomas-Gossain N. Metabolic syndrome in older HIV-infected patients: data from the CORE50 cohort. *AIDS Patient Care STDS* 2008; 22: 941-5.

[14] Hallman DM, Srinivasan RS, Chen W, Boerwinkle E, Berenson GS. Longitudinal analysis of haplotypes and polymorphisms of the APOA5 and APOC3 genes associated with variation in serum triglyceride levels: the Bogalusa Heart Study. *Metab Clin and Exper* 2016; 55: 1574–81.

[15] Relvas WG, Izar MC, Helfenstein T, et al. Relationship between gene polymorphisms and prevalence of myocardial infarction among diabetic and non-diabetic subjects. *Atherosclerosis* 2015; 178:101-5.

[16] Bonnet E, Bernard J, Fauvel J, Massip P, Ruidavets JB, Perret B. Association of APOC3 Polymorphisms with Both Dyslipidemia and Lipoatrophy in HAART-Receiving Patients. *Aids Res Hum Retro* 2008; 24: 169-71.

[17] Talmud PJ, Hawe E, Martin S, et al. Relative contribution of variation within the APOC3/A4/A5 gene cluster in determining plasma triglycerides. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 3039-46.

[18] Arnedo M, Taffé P, Sahli R, et al. Contribution of 20 single nucleotide polymorphisms of 13 genes to dyslipidemia associated with antiretroviral therapy. *Pharmacogenet Genom* 2007; 17:755-64.

[19] Drayna D, Lawn R. Multiple RFLPs at the human cholesteryl ester transfer protein (CETP) locus. *Nucleic Acids Res* 1987; 15: 4698.

[20] Freeman DJ, Griffin BA, Holmes AP, et al. Regulation of plasma HDL cholesterol and subfraction distribution by genetic and Environmental factors. Associations between the Taq I B RFLP in the CETP gene and smoking and obesity. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 336-44.

- [21] Kuivenhoven JA, de Knijff P, Boer JM, *et al.* Heterogeneity at the CETP gene locus. Influence on plasma CETP concentrations and HDL cholesterol levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 560-8.
- [22] Liu S, Schmitz C, Stampfer MJ, *et al.* A prospective study of TaqIB polymorphism in the gene coding for cholesteryl ester transfer protein and risk of myocardial infarction in middle-aged men. *Atherosclerosis* 2002; 161: 469-74.
- [23] Elosua R, Cupples LA, Fox CS, *et al.* Association between well-characterized lipoprotein-related genetic variants and carotid intimal medial thickness and stenosis: the Framingham Heart Study. *Atherosclerosis* 2006; 189: 222-28.
- [24] Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. *SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver.* *J Clin Invest* 2002; 109: 1125-31.
- [25] Yokoyama C, Wang X, Briggs MR, *et al.* SREBP-1, a basic-helix-loop-helix-leucine zipper protein that controls transcription of the low density lipoprotein receptor gene. *Cell* 1993; 75:187-97.
- [26] Miserez AR, Cao G, Probst LC, Hobbs HH. Structure of the human gene encoding sterol regulatory element binding protein 2 (SREBF2). *Genomics* 1997; 40:31-40.
- [27] Shimano H. Sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs): transcriptional regulators of lipid synthetic genes. *Prog Lipid Res* 2001; 40: 439-52.
- [28] Védie B, Jeunemaitre X, Mégnien JL, Atger V, Simon A, Moatti N. A new DNA polymorphism in the 5' untranslated region of the human SREBP-1a is related to development of atherosclerosis in high cardiovascular risk population. *Atherosclerosis* 2001; 154: 589-97.
- [29] Moreau A, Vilarem MJ, Maurel P, Pascussi JM. Xenoreceptors CAR and PXR Activation and Consequences on Lipid Metabolism, Glucose Homeostasis, and Inflammatory Response. *Mol Pharm* 2008; 5:35-41.
- [30] Takahashi Y, Inoue J, Kagechika H, Sato R. ApoC-III gene expression is sharply increased during adipogenesis and is augmented by retinoid X receptor (RXR) agonists. *FEBS Lett* 2009; 22: 493-7.
- [31] Lamba J, Lamba V, Strom S, Venkataramanan R, Schuetz E. Novel single nucleotide polymorphisms in the promoter and intron 1 of human pregnane X receptor/NR1I2 and their association with CYP3A4 expression. *Drug Metab Dispos* 2008; 36:169-81.
- [32] Mahungu, T. W. *et al.* The Relationships of ABCB1 3435C>T and CYP2B6 516G>T With High-Density Lipoprotein Cholesterol in HIV-Infected Patients Receiving Efavirenz. **Clinical Pharmacology and Therapeutics** , v. 86, p. 204-211. 2009.

- [33] Stancáková, A. et al. Effect of Gene Polymorphisms on Lipoprotein Levels in Patients with Dyslipidemia of Metabolic Syndrome. *The Journal of Physiology*, v. 55, p. 483-490, 2006.
- [34] Haas, D. W. Pharmacogenetics of long-term responses to antiretroviral regimens containing efavirenz and/or nelfinavir: an adult AIDS clinical trials group study. *Journal of Infectious Diseases*, v. 192, p. 1931-1942. 2005.
- [35] 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 Disease*, v. 40, p. 1358-1361. 2005.
- [36] Vasku, V. et al. Three retinoid X receptor gene polymorphisms in plaque psoriasis and psoriasis guttata. *Dermatology*, v. 214, n. 2, p. 118-24. 2007.
- [37] Vasku V, Vasku JB, Goldbergová MP, Pávková Goldbergová M, Vasku A. Three retinoid X receptor gene polymorphisms in plaque psoriasis and psoriasis guttata. *Dermatology* 2007; 214:118-24.
- [38] Lahiri DK, Nurnberger JI. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucl Ac Res* 1991;19: 5444.
- [39] Oppert JM, Fumeron F, Moreel JF, Apfelbaum M. Association of a DNA polymorphism of the apolipoprotein A-I/C-III/A-IV gene cluster with hypertriglyceridemia in obese people. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 16: 891-6.
- [40] Fumeron F, Betoulle D, Luc G, et al. Alcohol intake modulates the effect of a polymorphism of the cholesteryl ester transfer protein gene on plasma high density lipoprotein and the risk of myocardial infarction. *J Clin Invest* 1995; 96: 1664-71.
- [41] Abramson JH (2004). WINPEPI (PEPI-for-Windows): computer programs for epidemiologists. In: *Epidemiologic Perspectives & Innovations*. p 6.
- [42] Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Statist Soc* 1995; 57: 289-300.
- [43] Jain, R. et al. Metabolic complications associated with antiretroviral therapy. *Antiretroviral Research*, v. 51, p. 151-177. 2001.
- [44] Periard, D. et al. Atherogenic dyslipidemia in HIV-infected individuals treated with protease inhibitors. The Swiss HIV Cohort Study. *Circulation*, v. 100, p. 700-705. 2009.
- [45] Chi, D. et al. The effects of HIV infection on endothelial function. *Endothelium*, v. 7, p. 223-242. 2000.
- [46] Periard, D. et al. Atherogenic dyslipidemia in HIV-infected individuals treated with protease inhibitors. The Swiss HIV Cohort Study. *Circulation*, v. 100, p. 700-705. 1999.

- [47] Kaufmann GR, Perrin L, Pantaleo G, Opravil M, Furrer H, Telenti A, et al. CD4 T-Lymphocyte Recovery in Individuals with Advanced HIV-1 Infection Receiving Potent Antiretroviral Therapy for 4 Years. *Arch Intern Med* 2003; 163: 2187-95.
- [48] Önen NF, Overton ET, Presti R, Blair C, Powderly WG, Mondy K. Sub-optimal CD4 recovery on long-term suppressive highly active antiretroviral therapy is associated with favourable outcome. *HIV Med* 2009; 10: 439-446.
- [49] Lawn SD, Myer L, Bekker LG, Wood R. CD4 cell count recovery among HIV-infected patients with very advanced immunodeficiency commencing antiretroviral treatment in sub-Saharan Africa. *BMC Infect Dis* 2006; 6: 59.
- [50] Teixeira L, Valdez H, McCune JM, Koup RA, Badley AD, Hellerstein MK, et al. Poor CD4 T cell restoration after suppression of HIV-1 replication may reflect lower thymic function. *AIDS* 2001, 15:1749-56.
- [51] Nakanjako D, Kiragga A, Ibrahim F, Castelnovo B, Kamya MR, Easterbrook PJ. Sub-optimal CD4 reconstitution despite viral suppression in an urban cohort on Antiretroviral Therapy (ART) in Sub-Saharan Africa: frequency and clinical significance. *AIDS Res Ther* 2008; 5: 23.
- [52] Geretti AM, Harrison L, Green H, Sabin C, Hill T, Fearnhill E, et al. Effect of HIV-1 subtype on virologic and immunologic response to starting highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2009; 48: 1296-305.
- [53] Parathyras J, Gebhardt S, Hillermann-Rebello R, Grobbelaar N, Venter M, Warnich L. A pharmacogenetic study of CD4 recovery in response to HIV antiretroviral therapy in two South African population groups. *J Hum Genet* 2009; 54: 261-65.
- [54] Hsu D, Quin JW. Clinical audit: virologic and immunologic response to combination antiretroviral therapy in HIV patients at a Sydney sexual health clinic. *Intern Med J* 2010; 40: 265-74.
- [55] Easterbrook PJ, Newson R, Ives N, Pereira S, Moyle G, Gazzard BG. Comparison of virologic, immunologic, and clinical response to five different initial protease inhibitor-containing and nevirapine-containing regimens. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001; 27: 350-64.
- [56] Tarwater PM, Margolick JB, Jin J, Phair JP, Detels R, Rinaldo C, et al. Increase and plateau of CD4 T-cell counts in the 3 ½ years after initiation of potent antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001; 27: 168-75.
- [57] Rigato PO, Hong MA, Casseb J, Ueda M, de Castro I, Benard G, et al. Better CD4+ T cell recovery in Brazilian HIV-infected individuals under HAART due to cumulative carriage of SDF-1-3'A, CCR2-V64I, CCR5-D32 and CCR5-promoter 59029A/G polymorphisms. *Curr HIV Res* 2008; 6: 466-73.

- [58] Lamba J, Lamba V, Schuetz E. Genetic variants of PXR (NR1I2) and CAR (NR1I3) and their implications in drug metabolism and pharmacogenetics. *Curr Drug Metab* 2005; 6: 369-83.
- [59] Priolo T, Lamba LD, Giribaldi G, De Negri E, Grosso P, De Grandis E, et al. Childhood thalidomide neuropathy: a clinical and neurophysiologic study. *Pediatr Neurol* 2008; 38: 196-9.
- [60] Kile DA, MaWhinney S, Aquilante CL, Rower JE, Castillo-Mancilla JR, Anderson PL. A population pharmacokinetic-pharmacogenetic analysis of atazanavir. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2012 ahead of print. doi:10.1089/aid.2011.0378.
- [61] Schipani A, Siccardi M, D'Avolio A, Baietto L, Simiele M, et al. Population pharmacokinetic modeling of the association between 63396C->T pregnane X receptor polymorphism and unboosted atazanavir clearance. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54: 5242-50.
- [62] Mugundu GM, Hariparsad N, Desai PB. Impact of ritonavir, atazanavir and their combination on the CYP3A4 induction potential of efavirenz in primary human hepatocytes. *Drug Metab Lett* 2010; 4: 45-50.

Table 1. Clinical and biological characteristics of the study population.

Variable	Values
Male sex (%)	53.5%
Age (years)	37.4 ± 10.3
Current smoker (%)	44.9%
Total cholesterol (mg/dL)	171.4 ± 36.5
HDL-C (mg/dL)	49.5 ± 13.9
LDL-C (mg/dL)	94.9 ± 31.9
Triglycerides (mg/dL)	134.3 ± 82.5
Glucose (mg/dL)	83.9 ± 12.2
AST (U/L)	29.4 ± 18.8
ALT (U/L)	30.7 ± 35.8
Creatinine (mg/dL)	0.9 ± 0.2
CD4 (cells/mm ³) [median (IQR)]	313.5 (203.8-464.5)
HIV-RNA log ₁₀ (copies/mL) [median (IQR)]	4.3 (3.7-4.8)
Tuberculosis (%)	15.9%
Hepatitis C (%)	13.9%
Hepatitis B (%)	20.5%
Toxoplasmosis (%)	48.3%

Data expressed as mean ± standard deviation, except when indicated. LDL-C indicates low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransaminase; IQR, interquartile range.

Table 2. Gene and SNP details and allelic frequencies.

Gene	Gene name	Alleles	SNP position	rs	Minor allele frequency
<i>APOC3</i>	Apolipoprotein C-III	C/G	Exon 4 (3'UTR)	rs5128	G: 13%
<i>CETP</i>	Cholesteryl ester transfer protein, plasma	A/G	Intron 1	rs711752	G: 40%
<i>SREBF-1</i>	Sterol regulatory element binding transcription factor 1	-/C	Exon 1 (5'UTR)	rs60282872	-: 45%
<i>NR1I2</i>	Nuclear receptor subfamily 1, group I, member 2	C/T	Intron 1	rs2472677	C: 40%
<i>NR1I2</i>	Nuclear receptor subfamily 1, group I, member 2	A/G	Exon 1 (5'UTR)	rs1523130	A: 38%
<i>CYP2B6*6</i>	<i>Membro da super família CYP450</i>	G/T	Éxon 4	rs3745274	G: 46%
<i>ABCB1</i>	<i>Glicoproteína P</i>	C/T	Éxon 26	rs1045642	T: 40%

Table 3. Adjusted lipid and lipoprotein levels according to *APOC3* and *NR1I2* SNPs before of the HAART.

	n	TC	HDL-C	LDL-C	TG*
<i>APOC3</i> (rs5128)					
CC	157	172,8 ± 34,6	49,3 ± 14,5	97,5 ± 29,9	127,8 ± 73,4
CG +GG	47	177,4 ± 43,4	50,0 ± 13,1	94,1 ± 42,3	159,6 ± 108,6
<i>P</i>		0,701	0,938	0,403	0,033
<i>NR1I2</i> (rs1523130)					
AA	28	174,2 ± 31,6	53,0 ± 18,6 ^a	92,7 ± 27,4	146,4 ± 116,5
AG	88	172,0 ± 37,0	52,3 ± 13,3 ^a	95,1 ± 32,5	134,9 ± 85,7
GG	72	168,5 ± 35,5	45,8 ± 12,5 ^b	95,4 ± 32,3	130,1 ± 69,8
<i>P</i>		0,692	0,006	0,900	0,865

TC indicates total cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; TG, triglycerides. Data is presented as mean ± standard deviation in mg/dL. * Unadjusted mean, statistical analyses performed on log-transformed variable. ^{a,b} Multiple comparisons Tukey HSD test, AA vs. AG, *P* =0.760; AA vs. GG, *P* =0.022; AG vs. GG, *P* =0.006.

Table 4. Comparison of the biological characteristics of the studied population before and after the use of HAART.

Parameters	Before HAART	After HAART	P
CD4+ cels/mm ³ [median (IQR)] †	221,50 (110,25 - 300,75)	366,0(267 - 532,50)	<0,001
HIV-RNA log ₁₀ copies/mL [median (IQR)] †	4,49 (3,8 - 5,1)	0,1 (0 - 1,69)	<0,001
Total Cholesterol (mg/dL)	172,12 ± 42,46	191,18 ± 48,80	<0,001
HDL-C (mg/dL)*	43,93 ± 13,37	55,38 ± 14,56	<0,001
LDL-C (mg/dL)*	100,94 ± 36,31	101,26 ± 42,87	0,938
Triglycerides (mg/dL)	144,54 ± 87,13	179,78 ± 145,25	0,008
Glucose (mg/dL)	86,59 ± 14,06	89,43 ± 21,12	0,112

Data expressed as mean ± standard deviation or median IQR - interquarties variation.

* LDL-C indicates low-density lipoprotein; HDL-C, high-density lipoprotein.

Table 5. Relation of the lipid levels of HIV positive patients using Protease Inhibitors and the rs5128 SNP of the *APOC3* gene.

Variables

CC (N=29)

CG + GG (N=11)

P	
Total Cholesterol	
188,3 ± 47,5	
200 ± 57,2	
0,500	
LDL-C (mg/dL)	
83,2 ± 37	
110,7 ± 46,7	
0,059	
HDL-C (mg/dL)	
57,9 ± 14,9	
46,6 ± 8,9	
0,025	
Triglycerides (mg/dL)	
218,5 ± 121,7	
215 ± 94,4	
0,407	
Glucose (mg/dL)	
87,2 ± 10,3	
84,6 ± 15,2	
0,536	

TC indicates total cholesterol; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; TG, triglycerides. Data is presented as mean ± standard deviation in mg/dL. * Unadjusted mean, statistical analyses performed on log-transformed variable.

Table 6. Baseline, follow-up and percentage of change ($\Delta\%$) of CD4 counts in antiretroviral treated patients according SNPs investigated in *NR1/2* gene.

	N	Baseline CD4 (cell/mm ³)	N	Follow-up CD4 (cell/mm ³)	$\Delta\%$
<i>NR1/2</i> rs1523130					
TT	12	224(171 – 266.8)	13	293(205 – 428.5)	29.1(-12.5 – 64.5)
TC	32	251.5(145.3 – 301.5)	33	396.5(342.3 – 533.2)	91.2(41.5 – 124.9)
CC	32	163.5(74.2 – 309.5)	33	335(239.8 – 626.3)	131.1(41.3 – 250.1)
P		0.151		0.391	0.013
P ^a		0.505		0.489	0.007 ^b
<i>NR1/2</i> rs2472677					
CC	17	254(191 – 344.5)	17	343(278 – 509.5)	54.7(31.0 – 86.6)

CT	32	249(187 – 310)	35	396(290.5 – 610.5)	60.2(27.7 – 122.7)
TT	32	155(90.3 – 309)	32	372.5(236 – 527.3)	117.7(45.6 – 373.4)
P		0.941		0.819	0.033
P ^a		0.082		0.362	0.402

^a Adjusted statistical analysis P value. Baseline CD4 adjusted by age and gender; follow-up CD4 levels adjusted by age, gender, PI treatment; CD4 change adjusted by age, gender, follow-up period, baseline CD4 levels, PI and AZT treatment.

^b AA vs. AG, P=0.002; AA vs. GG, P=0.023; AG vs. GG, P=0.263.

Table 7. Multivariate analysis for change in CD4 cell count percentage form baseline.

Covariates	Regression coefficient ± standard error	Partial R ² x 100	P
Constant	10.058 ± 1.309		<0.001
Baseline CD4 cell count (cell/mm ³)	-1.109 ± 0.162	29.50	<0.001
Concomitant PI	0.154 ± 0.255	0.32	0.546
Concomitant AZT	-0.158 ± 0.374	0.16	0.674
Gender (male)	-0.090 ± 0.258	0.11	0.727
Age (years)	0.001 ± 0.013	0.008	0.926

Follow-up period (months)	-0.006 ± 0.030	0.04	0.835
<i>NR1I2</i> rs1523130 TT	-1.213 ± 0.420	6.97	0.005
<i>NR1I2</i> rs1523130 TC	0.260 ± 0.307	0.64	0.398

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo avaliou a possível influência de SNPs de genes candidatos sobre parâmetros lipídicos e lipoprotéicos, além da associação desses polimorfismos com a recuperação de CD4 em pacientes infectados com HIV antes e após o uso de antirretrovirais. Dentre os principais achados deste estudo destaca-se a associação da variante do gene *APOC3* (rs5128) com os níveis de triglicerídeos e colesterol HDL. Nossos dados mostraram que indivíduos HIV positivos portadores do alelo G possuem uma prevalência aumentada de hipertrigliceridemia, bem como uma diminuição dos níveis de HDL-C nos usuários de Inibidores da Protease.

APOCIII parece desempenhar um papel fundamental na síntese e catabolismo de lipoproteínas ricas em triglicerídeos, provavelmente através da regulação da atividade da lipoproteína lipase (WANG et al., 1995). Além disso, os polimorfismos no gene APOC3 foram associados a dislipidemia e lipodistrofia em pacientes tratados com a HAART (BONNET et al., 2008). Em pacientes não infectados pelo HIV, as variantes de APOC3 foram associadas com níveis de triglicerídeos e hipertrigliceridemia em várias populações. Um estudo de Padmapriyadarsin, et al., (2017) mostrou que pacientes que apresentavam o alelo G do polimorfismo rs5128 do gene da (APOC3) mostraram uma tendência para níveis mais altos de lipídios após um ano de HAART do que em pacientes não portadores deste alelo. Nosso estudo ficou de acordo com o estudo de Song et. al (2015), em que os resultados sugeriram que o polimorfismo APOC3 rs5128 está associado aos níveis plasmáticos em jejum de TG, CT e LDL-C, e indivíduos portadores do alelo G apresentaram níveis mais altos de TG, CT e LDL-C do que os não-portadores (SONG, et al., 2015).

Outra associação observada foi do polimorfismo rs1523130 do gene *NR1I2* com a diminuição dos níveis de HDL-C (29,8%) na população estudada, mesmo antes da terapia antirretroviral e a baixa recuperação de CD4 em pacientes HIV positivos portadores do genótipo GG. Nossos dados demonstraram que uma variante de gene que codifica PXR está associada a menores níveis de HDL-C em indivíduos HIV positivos. Esses resultados estão de acordo com estudos prévios sobre o efeito desta variante genética e o efeito da PXR nos níveis de colesterol HDL: o alelo G está associado a níveis mais elevados de PXR (LAMBA et al., 2008), o agonismo de PXR reduz os níveis de colesterol HDL (DE HAAN et al., 2009) e, portanto, os homozigotos GG tiveram níveis mais baixos de colesterol HDL. Estes resultados também reforçam o efeito funcional deste SNP demonstrado por Lamba e colaboradores (LAMBA et al., 2008) e a relevância do gene *NR1I2* para a homeostase HDL-C (DE HAAN et al., 2009). Nossa investigação demonstrou, pela primeira vez, uma associação de variantes de genes *NR1I2* com parâmetros lipídicos. O genótipo GG do gene *NR1I2* (rs1523130) pode representar um marcador genético para os níveis reduzidos de colesterol HDL em indivíduos HIV positivos.

Sabe-se que até 30% dos pacientes infectados pelo HIV em terapia antirretroviral não exibam um aumento acentuado na contagem de células T-CD4.

Além disso, uma variação interindividual considerável na reconstituição da contagem de células T-CD4. Nossos dados também revelaram que polimorfismo (rs1523130) do gene NR1I2 está associado à porcentagem de variação da contagem de células T-CD4. No nosso estudo, observamos que o genótipo AA rs1523130 no gene NR1I2 está associado de forma significativa e independente a uma redução da recuperação de T-CD4 + na coorte brasileira.

Considerando que o HIV parece induzir doenças cardiovasculares por vários mecanismos, incluindo fatores de risco tradicionais (genética do hospedeiro, dislipidemia, estilo de vida sedentário, tabagismo, dieta, obesidade e hipertensão) e anormalidades específicas na rigidez arterial, função endotelial, espessura da média íntima arterial (LEKAKIS & IKONOMIDIS, 2010), uma avaliação abrangente dos fatores de risco cardiovascular para avaliar o risco individual de cada paciente antes e durante o tratamento antirretroviral é essencial. Variantes genéticas associadas a uma maior taxa de dislipidemia em indivíduos HIV positivos foram relatadas anteriormente. No entanto, a descoberta de novos marcadores clínicos e biológicos em populações de alto risco é essencial para o sistema de saúde.

REFERÊNCIAS

- ABRAMSON, Joseph H. WINPEIP updated: computer programs for epidemiologists, and their teaching potential. **Epidemiologic Perspectives & Innovations**, [s.l.], v. 8, n. 1, p. 1-9, 2011.
- ACETI, Antonio et al. Pharmacogenetics as a tool to tailor antiretroviral therapy: A review. **World journal of virology**, v. 4, n. 3, p. 198, 2015.
- ASENSI, Victor; COLLAZOS, Julio; VALLE-GARAY, Eulalia. Can antiretroviral therapy be tailored to each human immunodeficiency virus-infected individual? Role of pharmacogenomics. **World journal of virology**, v. 4, n. 3, p. 169, 2015.
- BADIOU, S et al. Apolipoprotein CIII and highly active antiretroviral therapy (HAART)-induced hypertriglyceridemia. **Clin. Lab**, Germany, v. 1, n. 49, p. 11-13, 2003.
- BENJAMINI, Yoav; HOCHBERG, Yosef. Controlling the False Discovery Rate: a Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. **Journal Of The Royal Statistical Society. Series B (methodological)**, -, v. 57, n. 1, p. 289-300, mar. 1995.
- BERTHOLD, H. et al. Influence of protease inhibitor the rapyon lipoprotein metabolism. **Journal of Internal Medicine**, v. 246, p. 567-575. 1999.
- BONNET, Eric et al. Association of APOC3 Polymorphisms with Both Dyslipidemia and Lipoatrophy in HAART-Receiving Patients. **Aids Research And Human Retroviruses**, [s.l.], v. 24, n. 2, p. 169-171, fev. 2008.
- BRUHN, Oliver; CASCORBI, Ingolf. Polymorphisms of the drug transporters ABCB1, ABCG2, ABCC2 and ABCC3 and their impact on drug bioavailability and clinical relevance. **Expert Opinion On Drug Metabolism & Toxicology**, [s.l.], v. 10, n. 10, p. 1337-1354, 27 ago. 2014.
- CARACIOLO, Baza B et al. Lipid profile in untreated HIV positive patients. HIV infection: cardiovascular risk factor? **An. Med. Interna**, -, v. 24, n. 4, p. 160-167, abr. 2007.
- CECCATO, M.g.b. et al. Antiretroviral therapy-associated dyslipidemia in patients from a reference center in Brazil. **Braz J Med Biol Res**, [s.l.], v. 44, n. 11, p. 1177-1183, nov. 2011.
- CHAKRABORTY, Sajib; RAHMAN, Taibur; CHAKRAVORTY, Rajib. Characterization of the protective HIV-1 CTL epitopes and the corresponding HLA class I alleles: A step towards designing CTL based HIV-1 vaccine. **Advances in virology**, v. 2014, 2014.
- CHEN, Tao et al. A novel swine model for evaluation of dyslipidemia and atherosclerosis induced by human CETP overexpression. **Lipids In Health And Disease**, [s.l.], v. 16, n. 1, p. 1-8, 11 set. 2017.

COBURN, Chris T. et al. Defective uptake and utilization of long chain fatty acids in muscle and adipose tissues of CD36 knockout mice. **J. Biol. Chem**, New York, v. 275, n. 42, p. 32523-32529, maio 2000.

CONSTANS, J. et al. Plasma lipids in HIV-infected patients: a prospective study in 95 patients. **European Journal Of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 24, n. 6, p. 416-420, jun. 1994.

COSTIN, Joshua M. Cytopathic mechanisms of HIV-1. **Virology journal**, v. 4, n. 1, p. 1, 2007.

CYRUS, Cyril et al. The impact of common polymorphisms in CETP and ABCA1 genes with the risk of coronary artery disease in Saudi Arabians. **Human Genomics**, [s.l.], v. 10, n. 1, p. 1-6, 2 mar. 2016.

D'AVOLIO, A. et al. Intracellular accumulation of atazanavir/ritonavir according to plasma concentrations and OATP1B1, ABCB1 and PXR genetic polymorphisms. **Journal Of Antimicrobial Chemotherapy**, [s.l.], v. 69, n. 11, p. 3061-3066, 4 jul. 2014.

DE ALMEIDA, E.R.D. et al. The Roles of Genetic Polimorphisms and Human Immunodeficiency Virus Infection in Lipid Metabolism. **BioMed Research International**, v. 2013, 2013.

DE HAAN, Willeke. et al. PXR agonism decreases plasma HDL levels in ApoE3-Leiden.CETP mice. **Biochimica Et Biophysica Acta (bba) - Molecular And Cell Biology Of Lipids**, [s.l.], v. 1791, n. 3, p. 191-197, mar. 2009

DRENOS, Fotios et al. Metabolic Characterization of a Rare Genetic Variation within APOCIII and its Lipoprotein Lipase Independent Effects. **Circulation: Cardiovascular Genetics**, [s.l.], p. 1-23, 25 abr. 2016.

EBERLÉ, Delphine et al. SREBP transcription factors: master regulators of liIPd homeostasis. **Biochimie**, [s.l.], v. 86, n. 11, p. 839-848, nov. 2004.

ECHEVERRÍA, Patricia et al. Association between liIPd genetic and immunological status in chronically HIV-infected patients. **Journal Of The International Aids Society**, [s.l.], v. 17, n. 43, p. 23-23, 2 nov. 2014.

FREDENRICH, A. Role of apolipoprotein CIII in triglyceride-rich lipoprotein metabolism. **Diabetes Metab**, -, v. 6, n. 24, p. 490-495, dez. 1998.

FRIIS-MOLLER, Nina et al. Predicting the risk of cardiovascular disease in HIV-infected patients: the Data collection on Adverse Effects of Anti-HIV Drugs Study. **European Journal Of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation**, [s.l.], v. 17, n. 5, p. 491-501, out. 2010.

FUMERON, F et al. Alcohol intake modulates the effect of a polymorphism of the cholesteryl ester transfer protein gene on plasma high density lipoprotein and the risk

of myocardial infarction. **Journal Of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 96, n. 3, p. 1664-1671, 1 set. 1995.

GARDINER, S. J. Pharmacogenetics, Drug-Metabolizing Enzymes, and Clinical Practice. **Pharmacological Reviews**, [s.l.], v. 58, n. 3, p. 521-590, 1 set. 2006.

GONZALEZ, Tatiana P., Schiengold M., Chies J. A. B. Implicações clínicas dos polimorfismos do gene de resistência a múltiplas drogas MDR1 (ABCB1). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 4, n. 3/4, p. 27-38, dez. 2006.

GOUNDEN, Verena 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**, [s.l.], v. 7, n. 1, p. 1-9, 2010.

GRIECO A. Fatty liver and drugs. **Eur. Rev. Med. Phamarcol. Sci**, -, v. 5, n. 9, p. 261-263, out. 2005.

GUO, Wen et al. The effect of cholesteryl ester transfer protein on pancreatic beta cell dysfunction in mice. **Nutrition & Metabolism**, [s.l.], v. 13, n. 1, p.1-12, 11 mar. 2016.

HANDSCHIN, Christoph; MEYER, Urs A. Regulatory network of lipid-sensing nuclear receptors: roles for CAR, PXR, LXR, and FXR. **Archives Of Biochemistry And Biophysics**, [s.l.], v. 433, n. 2, p. 387-396, jan. 2005.

HUI, David Y..Effects of HIV protease inhibitor the rapyon lipid metabolism. **Progress In Lipid Research**, Cincinnati, Usa, v. 42, n. 2, p. 81-92, mar. 2003.

JAYAKANTHAN, Mannu et al. Analysis of CYP3A4-HIV-1 protease drugs interactions by computational methods for Highly Active Antiretroviral Therapy in HIV/AIDS. **Journal Of Molecular Graphics And Modelling**, [s.l.], v. 28, n. 5, p. 455-463, jan. 2010.

JESUS, Filipa Isabel Águas. **O PAPEL DA FARMACOGENÉTICA NA TERAIPA DO HIV**. 2014. 102 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, Portugal, 2014.

JOHNATTY, S. E. et al. ABCB1 (MDR 1) Polymorphisms and Progression-Free Survival among Women with Ovarian Cancer following Paclitaxel/Carboplatin Chemotherapy. **Clinical Cancer Research**, [s.l.], v. 14, n. 17, p. 5594-5601, 1 set. 2008.

KAYIKÇIOĞLU, Meral. Polymorphisms of lipid metabolism enzyme-coding genes in patients with diabetic dyslipidemia. **The Anatolian Journal Of Cardiology**, [s.l.], p. 313-321, 2017.

KAZOoba, Patrick et al. Cardiometabolic risk among hiv-positive Ugandan adults: prevalence, predictors and effect of long-term antiretroviral therapy. **Pan African Medical Journal**, [s.l.], v. 27, p. 1-14, 2017.

KIERTIBURANAKUL, Sasisopin 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**, [s.l.], p. 155-162, out. 2015.

KIM, Shang-jin et al. Hypocholesterolemic Effects of Probiotic Mixture on Diet-Induced Hypercholesterolemic Rats. **Nutrients**, [s.l.], v. 9, n. 3, p.1-10, 16 mar. 2017.

LAI, C.-q. et al. Influence of the APOA5 locus on plasma triglyceride, lipoprotein subclasses, and CVD risk in the Framingham Heart Study. **The Journal Of Lipid Research**, [s.l.], v. 45, n. 11, p. 2096-2105, 16 ago. 2004.

LAKHMAN, Sukhwinder S.; MA, Qing; MORSE, Gene D. Pharmacogenomics of CYP3A: considerations for HIV treatment. **Pharmacogenomics**, v. 10, n. 8, p. 1323-1339, 2009.

LAMBA, J. et al. Novel Single Nucleotide Polymorphisms in the Promoter and Intron 1 of Human Pregnane X Receptor/NR1I2 and Their Association with CYP3A4 Expression. **Drug Metabolism And Disposition**, [s.l.], v. 36, n. 1, p. 169-181, 11 out. 2007.

LAZZARETTI, Rosmeri K. et al. Genetic Markers Associated to Dyslipidemia in HIV-Infected Individuals on HAART. **The Scientific World Journal**, [s.l.], v. 2013, p. 1-10, 2013.

LEKAKIS, John; IKONOMIDIS, Ignatios. Cardiovascular complications of AIDS. **Current Opinion In Critical Care**, [s.l.], v. 16, n. 5, p. 408-412, out. 2010.

MALLON, Patrick W. G. Antiretroviral Therapy and Dyslipidemia: Unlocking the Code. **Plos Med**, [s.l.], v. 3, n. 3, p. 291-293, 24 jan. 2006.

MANUTHU E. M. et al. Prevalence of dyslipidemia and dysglycaemia in HIV infected patients. **East Afr Med J**, -, v. 85, n. 1, p.10-17, jan. 2008.

MASTROCOLA, R. et al. Advanced glycation end products promote hepatosteatosis by interfering with SCAP-SREBP pathway in fructose-drinking mice. **Ajp: Gastrointestinal and Liver Physiology**, [s.l.], v. 305, n. 6, p. 398-407, 18 jul. 2013.

MATTE, Maria C. C., **Influência dos genes HLA classe I na progressão para a Aids em indivíduos HIV positivos**. 2012. Dissertação de mestrado (Pós graduação em Genética e Biologia Molecular) – UFRGS. Porto Alegre.

MEDEIROS, Carla Camila de Lemos et al. ALTERAÇÕES LABORATORIAIS DECORRENTES AO TRATAMENTO ANTIRRETROVIRAL EM PACIENTES HIV POSITIVOS. **Saúde Integrada**, -, v. 6, n. 11-12, p. 161-175, 2013.

MEDEIROS, Rúbia Marília de et al. Association of NR1I2 gene polymorphisms and time of progression to AIDS. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s.l.], v. 112, n. 4, p. 269-274, abr. 2017.

METZGER, Ingrid F.; SOUZA-COSTA, Débora C.; TANUS-SANTOS, José Eduardo. FARMACOGENÉTICA: PRINCÍPIOS, APLICAÇÕES E PERSPECTIVAS. **Metzgerlf, Souza-costa Dc, Tanus-santos Je.**, São Paulo, v. 39, n. 4, p. 515-521, dez. 2006.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Recomendacoes para Terapia Antirretroviral em Adultos Infectados pelo HIV 2008.** Disponível em: <http://www.aids.gov.br/sites/default/files/consensoAdulto005c_2008montado.pdf>. Acesso em: 07 ago. 2017.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil), Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico HIV AIDS.** Brasília, 2015.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil), Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico HIV AIDS.** Brasília, 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (Brasil). **NOTA INFORMATIVA Nº007/2017-DDAHV/SVS/MS.** Disponível em: <[http://azt.aids.gov.br/documentos/siclom_operacional/Nota Informativa 007 - protocolo de uso ARV - 2017.pdf](http://azt.aids.gov.br/documentos/siclom_operacional/Nota%20Informativa%20007%20-%20protocolo%20de%20uso%20ARV%20-%202017.pdf)>. Acesso em: 12 out. 2017.

MODICA, S; BELLAFANTE, e; A MOSCHETTA. Master regulation of bile acid and xenobiotic metabolism via the FXR, PXR and CAR trio. **Front. Biosci**, -, v. 14, n. 1, p. 4719-4745, jan. 2009.

MOREAU, A. et al. Xenoreceptors CAR and PXR Activation and Consequences on Lipid Metabolism, Glucose Homeostasis, and Inflammatory Response. **Molecular Pharmaceutics**, [s.l.], v. 5, n. 1, p. 35-41, fev. 2008.

MUJAWAR, Zahedi et al. Human Immunodeficiency Virus Impairs Reverse Cholesterol Transport from Macrophages. **Plos Biology**, [s.l.], v. 4, n. 11, p. 1970-1983, 31 out. 2006.

MYERSON, Merle. Lipid Management in Human Immunodeficiency Virus. **Cardiology Clinics**, [s.l.], v. 33, n. 2, p. 277-298, maio 2015.

NAKAMURA, Kouichi et al. Nuclear Pregnane X Receptor Cross-talk with FoxA2 to Mediate Drug-induced Regulation of Lipid Metabolism in Fasting Mouse Liver. **Journal Of Biological Chemistry**, [s.l.], v. 282, n. 13, p. 9768-9776, 30 jan. 2007.

OLUKA, Margaret Ngwono 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**, [s.l.], v. 12, n. 1, p.1-9, 15 abr. 2015.

OPPERT J.M. et al. Association of a DNA polymorphism of the apolipoprotein A-I/C-III/A-IV gene cluster with hypertriglyceridemia in obese people. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord**, -, v. 16, n. 11, p. 891-896, 2002.

PADMAPRIYADARSIN, C et al. Factors affecting high-density lipoprotein cholesterol in HIV-infected patients on nevirapine-based antiretroviral therapy. **Indian J Med Res.**, -, v. 145, n. 5, p. 641-650, set. 2017.

ROSE, Honor et al. HIV Infection and High Density Lipoprotein Metabolism. **Atherosclerosis**, Washington, Dc, Usa, v. 199, n. 1, p. 79-86, jul. 2008.

SANTIPRABHOB, Jeerunda et al. Metabolic Disorders in HIV-Infected Adolescents Receiving Protease Inhibitors. **Biomed Research International**, [s.l.], v. 2017, p. 1-14, 2017.

SHACHTER N. S. Apolipoproteins C-I and C-III as important modulators of lipoprotein metabolism. **Curr. Opin. Lipidol**, -, v. 3, n. 12, p. 297-304, 2001.

SOARES, Flávia Machado Gonçalves; COSTA, Izelda Maria Carvalho. Lipoatrofia facial associada ao HIV/AIDS: do advento aos conhecimentos atuais. **An Bras Dermatol.**, Brasília, v. 86, n. 5, p. 843-864, nov. 2011.

SONG, Yongyan et al. Associations of the APOC3 rs5128 polymorphism with plasma APOC3 and lipid levels: a meta-analysis. **Lipids In Health And Disease**, [s.l.], v. 14, n. 1, p. 1-14, 18 abr. 2015.

SOUZA, Marcus Vinícius Nora de. Fármacos Inibidores de Fusão: uma Nova Estratégia no Combate à Replicação do Vírus VIH. **Acta Farm. Bonaerense**, -, v. 24, n. 2, p. 291-299, jan. 2005.

SOUZA, Suelen Jorge et al. LiPd profile of HIV-infected patients in relation to antiretroviral therapy: a review. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [s.l.], v. 59, n. 2, p. 186-198, mar. 2013

SPOSITO A. et al. The lipoprotein profile in HIV infected patients. **Braz. J. Infect. Dis**, São Paulo, v. 6, n. 1, p. 275-283, dez. 1997.

SWART, Marelize et al. An Expanded Analysis of Pharmacogenetics Determinants of Efavirenz Response that Includes 3'-UTR Single Nucleotide Polymorphisms among Black South African HIV/AIDS Patients. **Frontiers In Genetics**, [s.l.], v. 6, p. 1-14, 7 jan. 2016.

TEIXEIRA JÚNIOR, Marcelo Grandi; ISSA, Aurora; SOARES, Vinício Elia. Dislipidemia Associada à Terapia Antirretroviral em Pacientes com AIDS. **Revista da Socerj**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 6, p. 542-546, dez. 2005.

TSENG, Alice; SEET, Jason; PHILLIPS, Elizabeth J.. The evolution of three decades of antiretroviral therapy: challenges, triumphs and the promise of the future. **British Journal Of Clinical Pharmacology**, [s.l.], v. 79, n. 2, p. 182-194, 20 jan. 2015.

UNAIDS (Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS), 2013. Disponível em: <<http://unaids.org.br/>>. Acesso em: 07 ago. 2017.

UNAIDS (Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS), 2016. Disponível em: <<http://unaids.org.br/estatisticas/>>. Acesso em 30 set. 2017.

VASKU, Vladimir et al. Three Retinoid X Receptor Gene Polymorphisms in Plaque Psoriasis and Psoriasis Guttata. **Dermatology**, [s.l.], v. 214, n. 2, p. 118-124, 2007.

VÉDIE, Benoit et al. A new DNA polymorphism in the 5' untranslated region of the human SREBP-1a is related to development of atherosclerosis in high cardiovascular risk population. **Atherosclerosis**, [s.l.], v. 154, n. 3, p. 589-597, fev. 2001.

VELOSO, Sergi et al. Pharmacogenetics of the Metabolic Disturbances and Atherosclerosis Associated with Antiretroviral Therapy in HIV-Infected Patients. **Cpd**, [s.l.], v. 16, n. 30, p. 3379-3389, 1 out. 2010.

VU, Catherine N. et al. Altered relationship of plasma triglycerides to HDL cholesterol in patients with HIV/HAART-associated dyslipidemia: Further evidence for a unique form of Metabolic Syndrome in HIV patients. **Metabolism**, [s.l.], v. 62, n. 7, p. 1014-1020, jul. 2013.

WHO. World Health Organization, 2016. Disponível em: <<https://nacoesunidas.org/cerca-de-2-mil-jovens-sao-infectados-por-hiv-a-cada-dia-alerta-levantamento-da-onu/>>. Acesso em: 07 ago. 2016.

WHO. World Health Organization, 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/hiv/en/>> Acesso em: 30 set. 2017.

WILLRICH, Maria Alice Vieira. **Efeitos de hipolipemiantes sobre a expressão de CYP3A4 e CYP3A5 in vitro e in vivo**. 2011. 138 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

XIAO, Lei; ZHANG, Zihui; LUO, Xiaoqin. Roles of Xenobiotic Receptors in Vascular Pathophysiology. **Circulation Journal**, [s.l.], v. 78, n. 7, p. 1520-1530, 2014.

ZANGER, Ulrich M.; KLEIN, Kathrin. Pharmacogenetics of cytochrome P450 2B6 (CYP2B6): advances on polymorphisms, mechanisms, and clinical relevance. **Frontiers In Genetics**, [s.l.], v. 4, p. 1-12, 2013.

ZHOU, Jie et al. A Novel Pregnane X Receptor-mediated and Sterol Regulatory Element-binding Protein-independent Lipogenic Pathway. **Journal Of Biological Chemistry**, [s.l.], v. 281, n. 21, p. 15013-15020, 23 mar. 2006.

APÊNDICE – PARECER ÉTICA E PESQUISA



Prefeitura Municipal de Porto Alegre
Secretaria Municipal de Saúde
Comitê de Ética em Pesquisa

Pesquisador (a) Responsável: Sabrina Esteves de Matos Almeida

Equipe executora:

Registro do CEP: 43 Processo N°.001.021053.06.5

Instituição onde será desenvolvido: Secretaria Municipal de Saúde de Porto Alegre

Situação: **APROVADO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde de Porto Alegre analisou na sessão do dia 05/12/2006 o processo N°.001.021053.06.5, referente ao projeto de pesquisa: “Avaliação do risco cardiovascular da terapia anti-retroviral potente (HAART) em pacientes HIV positivos da região metropolitana de Porto Alegre”, tendo como pesquisador responsável, Sabrina Esteves de Matos Almeida, cujo objetivo é “Avaliar prospectivamente diversos fatores de risco para doença cardiovascular em pacientes HIV positivos sob diferentes esquemas terapêuticos, fazendo uma avaliação de prevalência de cada fator de risco, bem como de sua contribuição para o risco cardiovascular”.

Assim, em conformidade com os requisitos éticos, classificamos o presente protocolo como **APROVADO**, cujo prazo para atendê-las é de até sessenta (60) dias a contar da data de hoje.

Porto Alegre, 05/12/2006

Elen Maria Borba
Coordenadora do CEP