

Resistência genotípica do Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1 aos antirretrovirais

Genotypic resistance of human immunodeficiency virus type 1 to antiretroviral

Ana Carolina Rodrigues Veloso¹
Helena Toledo Kaminski Fink²
Lídia Maria Pinto de Lima³

RESUMO

Objetivo: Atualizar os conhecimentos sobre a problemática do aparecimento de mutações no vírus da imunodeficiência humana tipo 1 que causam resistência a medicamentos antirretrovirais.

Metodologia: Revisão bibliográfica da literatura sobre a variabilidade genética, o aparecimento de mutações e a resistência do vírus da imunodeficiência humana tipo 1, nas bases de dados da Ovid, Scielo e Science Direct Online, além de livros e documentos oficiais do Ministério da Saúde.

Resultados: O estudo revela que mesmo 29 anos após o primeiro caso descrito da doença, o vírus da imunodeficiência humana, agente etiológico da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), continua desafiando a saúde pública. O início da terapia de alta atividade antirretroviral (HAART), que combina drogas com diferentes formas de ação, aumentou consideravelmente a expectativa de vida dos pacientes. Porém, por se tratar de um retrovírus, o HIV não possui o mecanismo de revisão do DNA, este fato, aliado à sua alta taxa de replicação, facilita o aparecimento de mutações. Estas mutações, quando associada ao uso de medicamentos antirretrovirais, geram o aparecimento de resistência, diminuindo a efetividade do tratamento. Um importante fator, associado ao aumento da carga viral e conseqüente falha na terapia, é a não adesão ao tratamento, que facilita o aparecimento de resistência.

Conclusão: As populações mutantes do vírus tendem a aumentar com o tempo de uso dos antirretrovirais. Um estudo a respeito destas mutações, seu mecanismo de resistência e do ciclo reprodutivo do HIV-1 se faz necessário para o desenvolvimento de novas drogas que sejam eficazes contra as atuais resistentes.

Palavras-chave: AIDS; HIV; Resistência antirretroviral; HAART.

¹Curso de Farmácia da Universidade Católica de Brasília.
²Laboratório Central de Saúde Pública – LACEN/SVS/Secretaria de Estado de Saúde do DF.
³Laboratório Central de Saúde Pública – LACEN/SVS/SES/DF e Universidade Católica de Brasília.

Correspondência

Ana Carolina Rodrigues Veloso
SQS 31, bloco K, apartamento 507, Asa Sul, Brasília-DF. 70364-110, Brasil.
nanaveloso@gmail.com

Recebido em 27/maio/2010
Aprovado em 03/agosto/2010

ABSTRACT

Objective: To update the knowledge about the problematic of the emergence of mutations in the human immunodeficiency virus type 1, that cause resistance to antiretroviral.

Methods: Bibliographical revision of the literature on the genetic variability, the emergence of mutations and the resistance of the human immunodeficiency virus type-1, on Ovid, Scielo and Science Direct Online data base, besides books and official Health Ministry documents.

Results: The study reveals that even after 29 years of the first described case of the disease, the human immunodeficiency virus, the etiologic agent of the Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS), stills challenging the public health. The beginning of the Highly Active Antiretroviral Treatment (HAART), that combine drugs with different form of actions, increased the patient life expectative. However, because it's a retrovirus, the HIV doesn't have the revision mechanism that the DNA has, and this fact, alied to his replication level, make easier the mutation apearance. These mutation, when associated with the antiretroviral remedy usage, generates the resistance apearance, reducing the treatment effectiveness. An important fact is that, associated with the viral load rising and consequent therapy failing, it's not the adhesion treatment, that facilitates the resistance apearance.

Conclusions: The virus recombination and mutation tend to rise with the antiretroviral time usage. A study about these mutations, it's resistance mechanism and the HIV-1 reproductive cicle, makes it necessary for the development of new effective drugs against actual resistant strains.

Key words: AIDS; HIV; Resistance antiretroviral; HAART.

INTRODUÇÃO

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) provoca uma infecção persistente em humanos e pode levar ao aparecimento da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS), caracterizado pelas manifestações clínicas, como o aparecimento de infecções oportunistas¹. Os primeiros casos relatados de AIDS datam de 1980 e desde este ano até junho de 2007, foram identificados 474 mil casos, só no Brasil². Atualmente são conhecidos dois tipos de vírus associados à AIDS: o HIV-1 e o HIV-2. O segundo é endêmico na África, o primeiro é o mais virulento, responsável pela maioria das infecções por HIV em todo o mundo^{3,4,5}.

De acordo com a Unaid (Joint United National Programme on HIV/AIDS – Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/AIDS), a infecção por HIV na América Latina permanece de um modo geral estável. O número de novas infecções nesta região foi de 170000 em 2009. Inicialmente a epidemia concentrava-se entre homens que mantinham relação sexual com outros homens e trabalhadores do sexo, espalhando-se posteriormente aos usuários de drogas injetáveis. Atualmente a infecção se caracteriza pela feminização, com um crescente número de mulheres infectadas. Houve também um aumento da incidência do vírus HIV nas populações indígenas⁶.

Segundo dados do Ministério da Saúde, foram constatados no Brasil cerca de 205 mil óbitos causados pela AIDS até 2007⁷, com um aumento na taxa de mortalidade até meados da década de 90. Porém, a introdução da terapia de alta atividade antirretroviral (HAART) em 1996 trouxe uma importante queda na mortalidade, estabilizando-a em aproximadamente 6,4 óbitos anuais a partir do ano 2000². Esta terapia, que combina drogas com diferentes formas de ação, contribuiu significativamente para a queda das taxas de mortalidade, porém é ameaçada pela resistência viral⁸.

MÉTODO

Revisão bibliográfica da literatura sobre aspectos referentes à mutação genética do vírus HIV-1 na presença dos medicamentos antirretrovirais. A coleta de dados para o estudo foi realizada por meio de pesquisa em bases eletrônicas, como Ovid, Scielo e Science Direct Online, além de livros e documentos oficiais do Ministério da Saúde. Foram selecionados 44 (quarenta e quatro) estudos publicados no período de 1996 a 2010, com os seguintes desenhos: de revisão, prospectivos observacionais e descritivos.

As seguintes combinações de termo foram utilizadas como descritores: “HAART”, “terapia antirretroviral”, “adesão ao tratamento antirretroviral”, “HIV”, “AIDS” e “resistência antirretroviral”, nos idiomas inglês e português. As referências bibliográficas dos artigos assim localizados foram também rastreadas para localizar outros estudos de potencial interesse.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

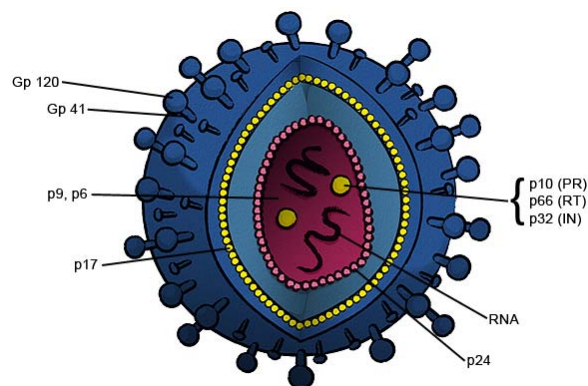
O Vírus

O HIV é um retrovírus envelopado³ pertencente à família *Rentiviridae*, subfamília *Orphoretrovirinae* e gênero *Lentivirus*⁹. Seu nucleocapsídeo em forma de cone é formado pela proteína gp24⁴ (Figura 1). Cada partícula viral contém duas cópias de RNA de fita simples com polaridade positiva^{3,4}, além das enzimas virais transcriptase reversa (p51/p66), integrase (p32), protease (p10)^{4,10} e proteínas do nucleocapsídeo (p9 e p6)⁴. Internamente, o envelope viral é rodeado pela proteína p17 que se liga ao ácido mirístico (M) para formar a matriz MA, que parece ser importante para a ligação de proteínas do envelope ao virion maduro⁴. Trímeros e tetrâmeros de glicoproteína do envelope,

ao todo 72 projeções, dão corpo à superfície viral. Estas glicoproteínas são a gp120, proteína externa da superfície e a gp41, proteína transmembrana^{4,11}.

Figura 1

Esquema da partícula viral do HIV-1 (adaptado da referência 11).



O ciclo reprodutivo do HIV tem início com a penetração do vírus na célula, por meio das glicoproteínas de adsorção gp41 e gp120. Esta última se une com alta afinidade ao CD4 na superfície celular, infectando preferencialmente os linfócitos T auxiliares, mas ligam-se também a células da linhagem dos macrófagos (como monócitos, células dendríticas e micróglia), que também expressam o receptor CD4⁴. Apenas a interação entre a glicoproteína gp120 e o CD4 linfocitário não é suficiente para a entrada do HIV na célula, esta glicoproteína também deve ligar-se a um correceptor na membrana da célula hospedeira, representado por algumas moléculas de quimiocinas, principalmente o CCR5 e o CXCR4^{3,4,12}. O CCR5 é um correceptor para vírus que apresenta tropismo por macrófagos, monócitos, células dendríticas e linfócitos T, enquanto o CXCR4, para aqueles com tropismo apenas por células T⁴.

Em seguida, ao expor o domínio hidrofóbico da glicoproteína gp41, ocorre o processo de adsorção e consequente fusão do envelope viral com a membrana plasmática celular, permitindo que o nucleocapsídeo cônico penetre no citoplasma, liberando posteriormente o genoma e as proteínas virais, processo denominado desnudamento^{3,4,11,12}.

Uma série de alterações estruturais e conformacionais são desencadeadas com a ligação das glicoproteínas de adsorção aos receptores celulares, estas transformações agem como um sinal para o início da transcrição reversa e promovem a desmontagem do nucleocapsídeo para posterior liberação do genoma viral¹¹.

No citoplasma, a transcriptase reversa transcreve as fitas de RNA em uma fita negativa complementar de DNA (cDNA) que, por sua vez, é transcrito em um duplo filamento de DNA que será transportado para o núcleo celular, onde pode permanecer na forma circular não integrada; ou, por meio da enzima viral integrase, pode ocorrer a integração ao genoma da célula⁴. O DNA viral integrado passa a ser denominado de provírus e servirá como molde para a síntese de todas as proteínas e genomas necessários para compor os novos virions¹¹.

O genoma viral

A principal característica dos membros do gênero *Lentivirus* é sua complexa organização genética. O genoma completo do HIV-1 é composto de nove genes individuais e duas longas sequências terminais repetitivas (LTR) nas extremidades 5' e 3'³. Essas terminações são necessárias para a integração do DNA viral ao DNA da célula hospedeira e contêm sítios de ligação para proteínas que controlam a expressão do gene viral³.

O genoma do HIV-1 tem 9,8 Kb de extensão e, além dos genes estruturais *gag*, *pol* e *env*, comuns a todos os retrovírus, o HIV-1 possui ainda os genes regulatórios *tat* e *rev*, essenciais para a replicação do vírus. Possui também os genes acessórios, *vif*, *vpr*, *vpu* e *nef*, com suas sequências intercaladas dentro de outros genes do HIV¹¹, como mostra a Figura 2.

Os genes *gag*, *pol* e *env* codificam proteínas da estrutura viral¹¹. O primeiro, *gag*, codifica a p55, proteína importante que dá origem as proteínas estruturais da região central do vírus. Tal proteína é clivada pela protease viral em três subunidades (p17, p24 e p9) no momento da maturação do novo virion. O gene *env* codifica a síntese das

proteínas do envelope viral: a p160, que posteriormente é clivada, gerando a p41 e a p120; já o gene *pol*, codifica todas as enzimas virais que atuam na replicação do HIV, são elas: p11, p66/p51 e p32^{10,11}. A clivagem proteolítica da poliproteína expressa pelos genes *gag* e *gag/pol* é essencial para a infectividade das partículas virais¹⁰.

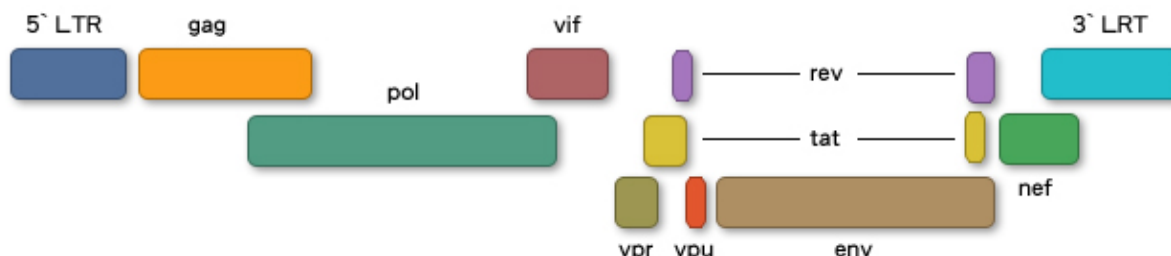
Os genes *rev*, *tat* e *nef* são ditos regulatórios, pois o acúmulo das proteínas codificadas por estes genes potencializam a expressão gênica¹¹. O gene *rev*, codifica a proteína que facilita o transporte do DNA para o núcleo e regula a produção das proteínas reguladoras em relação às estruturais. A proteína Tat (codificada pelo gene *tat*), aumenta os níveis de transcrição dos genes do HIV^{10,11}. Com relação ao gene *nef*, regula negativamente a expressão de CD4, MHC-I (complexo principal de histocompatibilidade de classe I), MHC-II (complexo principal de histocompatibilidade de classe II) e outras moléculas de membrana na célula infectada, interferindo na resposta imunológica, com isso aumenta a síntese das proteínas virais, além de aumentar a capacidade de infecção do vírus^{4,10}.

As proteínas codificadas pelos genes acessórios são expressas nas fases mais tardias do ciclo replicativo¹¹. O gene *vif*, abreviatura para *viruses infective factor* (fator de infectividade viral), está relacionado à virulência, podendo aumentar em até 1000 vezes o nível de infectividade do HIV^{10,11}. O gene *vpr* codifica uma proteína que atua no controle do ciclo celular, provocando a parada da célula infectada na fase G2, que é o intervalo do ciclo celular entre o final da síntese do DNA e início da mitose¹¹. O gene *vpu* codifica proteínas que atuam promovendo a degradação de novos receptores CD4^{4,10}.

O HIV-1 é geneticamente classificado em três grupos: major (M), outlier (O) e não M/não O (N)^{4,13}.

Figura 2

Mapa representativo do genoma HIV-1 (Adaptado da referência 11).



O primeiro, grupo M, é dividido em nove subtipos: A, B, C, D, F, G, H, J, K¹³ nos quais a análise da sequência de nucleotídeos da região *env* (que codifica a proteína do envelope) determina que membros do mesmo subtipo possuam similaridade de 90% ou mais. A identidade entre cada um dos subtipos é considerada quando essa mesma sequência nucleotídica for divergente em torno de 30%^{1,4}. Até o momento, no grupo M estão classificados cerca de 95% de todos os isolados de HIV-1⁴.

O grupo O apresenta apenas um subtipo que diverge em 50% quando comparado com as amostras do grupo M. O HIV-1 apresenta elevada taxa de mutação, tanto que é considerado uma subpopulação de vírus e não um genoma único. Em um mesmo indivíduo, a variabilidade do HIV está em torno de 6%, podendo chegar a 50% entre indivíduos de regiões geográficas diferentes⁴.

Um paciente pode ter sua célula infectada simultaneamente por diferentes subtipos do vírus, neste caso pode ocorrer uma recombinação genética e a criação de um vírus híbrido^{4,14,15}. Muitos destes vírus não conseguem se manter, porém, se a combinação for satisfatoriamente estabelecida tornam-se formas recombinantes circulantes (CRF—*circulating recombinant forms*). Até o momento já foram identificadas no mundo 29 CRF do HIV, as quais são numeradas de acordo com a ordem em que foram descobertas, por exemplo, CRF01_AB, indica o primeiro caso descrito composto pela recombinação entre os subtipos A e B^{4,14}.

O curso da disseminação de formas recombinantes do vírus é geográfico e depende do índice de prevalência das diferentes subtipos do HIV na região, da probabilidade de múltiplas infecções em determinados grupos geográficos e da ocorrência da recombinação¹⁴. O primeiro relato da presença de um CRF no mundo ocorreu no Brasil⁴, onde já foram detectados subtipos B, F, C^{4,14} e, em menor proporção, D¹⁴. A distribuição dos subtipos do HIV-1 assume diversos padrões de acordo com a região geográfica, mas, de um modo geral, as principais formas recombinantes circulantes no Brasil são: BC, BF, FD e o triplete BCF¹⁴.

Terapia antirretroviral

A zidovudina (AZT) foi a primeira droga desenvolvida para o tratamento da infecção pelo HIV no final dos anos 80¹². Em 1996 disponibilizou-se o uso da HAART (terapia de alta atividade antirretroviral), transformando o tratamento antirretro-

viral por possibilitar o aumento da expectativa de vida das pessoas que vivem com o HIV^{16,17}. Segundo Lucas (2005), a disseminação da terapia antirretroviral altamente ativa em países ricos transformou a característica da infecção pelo HIV “de pena de morte para doença crônica”¹⁸.

É muito importante avaliar o custo benefício da terapia no momento da indicação do tratamento antirretroviral¹⁹. O objetivo do HAART é aumentar a sobrevida do paciente mantendo sua qualidade de vida¹⁸, além de preservar e restaurar o sistema imunológico o quanto for possível, suprimindo de forma sustentada a replicação viral²⁰.

Ao avaliar a imunopatogênese da infecção e a existência de reservatórios virais anatômicos e celulares, conclui-se que, com as drogas disponíveis atualmente, a erradicação do HIV ainda não é possível^{18,19}.

O monitoramento laboratorial dos portadores de HIV é realizado por meio dos exames de contagem de linfócitos TCD4 e de quantificação da carga viral do HIV. De acordo com o novo consenso de 2008 a terapia deve ser iniciada quando a contagem desses linfócitos estiver entre 200 a 350 células/mm³, havendo ou não a manifestação clínica associada ao vírus ou quando o paciente manifestar sintomas, independente do número de CD4⁺ ou da carga viral plasmática. Abaixo de 200 linfócitos/mm³, além da terapia antirretroviral, deve ser iniciada a quimioprofilaxia para infecções oportunistas²⁰.

Em fevereiro de 2010, o Ministério da Saúde publicou um suplemento ao consenso, atualizando os critérios para o início do tratamento antirretroviral, visando diminuir os riscos relacionados à morbidade e mortalidade. Segundo este suplemento há sete condições para a qual a terapia deve ser iniciada quando a contagem de linfócitos TCD4 estiver entre 300-500 células/mm³, são elas: coinfeção pelo vírus B, em pacientes com indicação para tratamento de hepatite B; coinfeção pelo vírus da hepatite C; idade igual ou superior a 55 anos; doença cardiovascular estabelecida ou com risco elevado; nefropatia do HIV; neoplasias, incluindo as não definidoras de AIDS e elevada carga viral, superior a 100.000 cópias²¹.

Com relação à carga viral plasmática, o ideal é que permaneça abaixo do limite de detecção do método, que são 50 cópias/ml^{20,22}. Carga viral é um marcador clínico que mede a quantidade de par-

tículas virais do HIV em determinado volume de sangue de um indivíduo infectado. Trata-se de um indicador importante na avaliação da progressão da doença (relação direta com a quantificação da carga viral), do início da terapia e da determinação da eficácia dos medicamentos que estão sendo utilizados no tratamento²³.

Os processos de replicação do HIV apresentam muitos alvos que podem ser potenciais para intervenção farmacológica¹². Atualmente estão disponíveis no Brasil cinco classes de antirretrovirais²⁰: os que atuam inibindo competitivamente a enzima protease; os que inibem a transcriptase reversa, tanto no sítio de ligação da enzima, quanto alterando sua conformação²⁴; os que bloqueiam a fusão do HIV à membrana da célula; e aqueles que atuam impedindo a integração do DNA viral ao da célula infectada²⁵.

Os Inibidores Nucleosídicos da Transcriptase Reversa (NRTI) atuam em uma etapa inicial de transcrição viral, essencial para a replicação do vírus, impedindo a infecção das células susceptíveis, porém exercendo pouco efeito naquelas já infectadas¹². Para tornarem-se ativos, os NRTI precisam ser inicialmente fosforilados em 5'- trifosfato, por enzimas no interior da célula hospedeira. Esta forma fosforilada atua como um substrato alternativo da enzima transcriptase reversa e quando incorporado ao DNA, interrompe o prolongamento da cadeia de nucleotídeos em formação^{12,24}.

Atualmente estão disponíveis seis fármacos pertencentes à classe dos NRTI, que diferem entre si na via de fosforilação e em seus efeitos adversos¹⁴. São eles: zidovudina (AZT), didanosina (ddI), estavudina (d4T), lamivudina (3TC), abacavir (ABC)²⁴ e tenofovir (TFV)²⁶. Este último tem sua apresentação inicial pré-fosforilada²⁷.

Cada fármaco (NRTI) age competitivamente com um análogo nucleosídeo: AZT e d4T análogos à timidina; 3TC análogo à citosina; ddI análogo à adenosina; ABC análogo à guanosina; e o Tenofovir (TFV) análogo à adenosina.¹²

Uma segunda classe de antirretrovirais são os Inibidores Não Nucleosídicos da Transcriptase Reversa (NNRTI) que se ligam próximo ao sítio da enzima, induzindo uma alteração conformacional¹². Estes fármacos apresentam a vantagem de não precisarem de uma etapa inicial de ativação intracelular, como os NRTI²⁴. Porém, apresentam uma fraca barreira genética, desta forma o uso de

NNRTI pode selecionar na população viral apenas uma ou duas mutações que causam elevada resistência à medicação²⁸.

Estão disponíveis no Brasil dois medicamentos desta classe: nevirapina (NVP), medicamento de primeira geração; e o efavirenz (EFZ), de segunda geração²⁰.

Outro alvo potencial para fármaco é a enzima protease, responsável pela clivagem de precursores polipeptídicos necessário à formação de proteínas estruturais e funcionais. Os Inibidores da Protease (PI) agem competitivamente, evitando a clivagem dos genes gag e gag-pol²⁸ e impossibilitam a replicação de partículas virais, produzindo apenas virions inativos, após a etapa de brotamento²⁴. São diversos os medicamentos desta classe aprovados para uso na terapia contra a AIDS, entre eles podemos citar: saquinavir (SQV), indinavir (IDV), atazanavir (ATV), amprenavir (APV) e lopinavir (LPV)²⁰. Estes medicamentos são geralmente reforçados pelo ritonavir (RTV)²⁰.

Os Inibidores de Fusão são outra classe de antirretroviral que atuam ligando-se à glicoproteína gp41 e impedindo que o vírus adquira sua conformação fusogênica, desta forma impede a penetração na célula²². Até o momento, apenas a enfuvirtida foi liberada para uso clínico. Sua aplicação é subcutânea, provocando reações adversas locais e devido ao custo extremamente elevado, a indicação é exclusiva para terapia de resgate, fazendo parte de um esquema contendo pelo menos duas drogas ativas^{20,25}.

A terapia de resgate é o esquema antirretroviral introduzido quando determinado paciente apresenta falha virológica, ou seja, não-obtenção ou não-manutenção de carga viral indetectável. A necessidade deste novo esquema antirretroviral é gerada por fatores como: intolerância e/ou má adesão ao tratamento e uso prévio de esquemas inadequados²⁰.

Após o aparecimento de falha virológica pode ser realizado um teste de genotipagem para auxiliar na escolha do esquema de resgate. Este teste detecta a mutação no genoma viral que podem ter implicação na resistência aos medicamentos antirretrovirais trazendo benefícios na resposta virológica à terapia, uma vez que o conhecimento das mutações específicas de resistência às drogas é fundamental para a determinação do tratamento antirretroviral²⁰. Neste caso este conhecimento

possibilitará a substituição de um medicamento com atividade residual mínima para outro com atividade completa, ou quase completa²⁸.

Uma nova classe de antirretroviral, os inibidores da integrase, ficou disponível no Brasil para distribuição na rede do SUS no início de 2009. Atualmente o único medicamento disponível desta classe é o raltegravir (RAL), seu mecanismo de ação é impedir a integração do cDNA viral transcrito ao núcleo do linfócito infectado. Assim como o inibidor de fusão, o uso do RAL é direcionado a esquemas de resgate, porém, apenas quando o darunavir (DRV), um potente PI também utilizado em terapias de resgate, não for potente o suficiente para suprimir a replicação viral²⁶.

Outras drogas já estão disponíveis em outros países, como por exemplo, o maraviroc²⁸, um inibidor de entrada, que impede a ligação do vírus ao co-receptor CCR5^{25,28}.

No Brasil, a distribuição gratuita de medicamentos antirretrovirais aos portadores de HIV/AIDS é feita desde 1996, ano em que foi publicada a Lei. 9.313/96²⁹. A monoterapia não é recomendada, pois leva rapidamente à seleção de cepas mutantes e consequente desenvolvimento de resistência viral²⁰. Assim, a aplicação simultânea de vários antirretrovirais é a única chance de aumentar a eficácia do tratamento³⁰. De acordo com o Consenso 2008 “a terapia inicial deve sempre incluir combinações de três drogas: dois Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos associados a um Inibidor de Transcriptase Reversa Não Análogo de Nucleosídeo ou a um Inibidor da Protease reforçado com ritonavir (PI/r)”²².

Adesão ao tratamento

Os erros no tratamento podem ter conseqüências irreversíveis, por isso, antes de iniciar a estratégia terapêutica devem ser observados fatores como a resistência viral, a toxicidade das drogas e a necessidade da elevada adesão ao tratamento²⁰.

Existem duas importantes variáveis que interferem na efetividade da terapia e que, quando não seguidas, levam fatalmente ao fracasso, são elas: a adesão ao tratamento e a resistência viral, que estão intimamente relacionadas. As falhas virológicas são mais prováveis de acontecer em pacientes que não aderem ao regime antirretroviral e naqueles que, por já terem recebido múltiplos esquemas terapêuticos durante um período prolongado de

tempo, abrigam cepas que são resistentes a vários tipos de droga³¹.

Tanto os estudos quanto a prática diária demonstram que muitos pacientes infectados com o HIV têm dificuldade de adesão à terapia³² por diversos fatores que incluem o complexo esquema antirretroviral, com um alto número de doses e diferentes horários de administração dos medicamentos e restrições alimentares. São barreiras adicionais para a adesão: o esquecimento; desordens psiquiátricas, como depressão; incertezas a respeito da efetividade do tratamento e das conseqüências da não adesão, além dos efeitos adversos provocados pelas drogas^{30,31,32}.

A baixa adesão ao tratamento pode levar à falha na medicação, seleção de mutações virais e desenvolvimento de resistência à droga³². Na presença de cepas virais resistentes, as opções de futuro tratamento tornam-se mais escassas até que, eventualmente, podem esgotar³⁰. Estudos sugerem que o desenvolvimento de resistência viral se dá de forma diferente entre as classes de medicamentos^{19,32,33}, sendo que, uma breve exposição aos NNRTI, quando não associado a outros agentes, causa significativo desenvolvimento de resistência, já a resistência aos PI^{19,33} e aos NRTI, desenvolvem-se com mais tempo de exposição a estas drogas¹⁹.

A maioria dos estudos define a “não-adesão” como sendo a falta de doses. Porém, tomar a medicação em doses ou horários inadequados e não aderir a restrições dietéticas, por exemplo, também facilitam o aparecimento de resistência³¹. Para diminuir o risco de fracasso do tratamento é essencial manter um nível elevado de adesão, que varia conforme a terapia antirretroviral que está sendo aplicada³⁴. Vários estudos indicam que a meta de adesão ao tratamento deve ser de 95% para manter níveis indetectáveis de carga viral plasmática e prevenir mutações genotípicas do vírus resistentes às drogas antirretrovirais^{31,32,35}. Segundo Garvier em 2009, “é necessário pelo menos 90% de adesão ao HAART para manter a ótima supressão viral”³⁶. Não existe uma relação linear entre a taxa de adesão e o nível de RNA viral no plasma³¹.

Os níveis de adesão ao tratamento são medidos por vários métodos, entre eles a contagem de pílula, o autorrelato, a contagem eletrônica (também conhecida como contagem MEMS caps - Medication Event Monitoring System - um dispositivo instalado na tampa do frasco da medicação, que conta o número de vezes que ele é aberto³⁷) e a

concentração plasmática do antirretroviral. Alguns estudos utilizam combinações destes. Todos estes métodos estão sujeitos a limitações e podem superestimar a adesão³¹.

Antes de iniciar a terapia é necessário que o paciente esteja ciente dos objetivos e da necessidade de adesão ao tratamento²⁰. Estratégias podem ser aplicadas para tentar melhorar a adesão dos pacientes à terapia, entre elas prepará-los para os possíveis efeitos adversos, simplificar o esquema terapêutico e adequá-lo aos diferentes estilos de vida. É importante que todos os membros da equipe multidisciplinar se empenhem para educar e motivar os pacientes³¹.

Desenvolvimento de resistência viral

A facilidade do aparecimento de mutações do vírus da imunodeficiência humana deve-se à sua alta taxa de replicação viral e à propensão a erro da enzima transcriptase reversa (TR); que, por se tratar de uma DNA polimerase RNA dependente, não possui mecanismos revisores de DNA para corrigir erros preservando a composição do genoma, o que aumenta a variabilidade genética^{18,25,35,38}.

O desenvolvimento da resistência ocorre quando a replicação viral está associada ao uso de medicamento¹⁸. De acordo com Carvalho, o vírus mutante permaneceria latente enquanto o “selvagem” preservaria sua capacidade normal de replicação, mantendo-se predominante. A supressão parcial da replicação seria determinada por doses subótimas do medicamento que iriam inibir apenas os vírus selvagens, sensíveis à ação das drogas; assim, após algumas semanas, os mutantes resistentes sairiam do estado de latência e tenderiam a se tornar predominantes²⁵.

Mutações denominadas *transitions* são as mais frequentes. Trata-se da troca de bases nitrogenadas do mesmo grupo (purina em purina e pirimidina em pirimidina) e ocorrem em aproximadamente 80% dos casos. Os 20% restantes são *transversions*, onde há troca de pirimidina em purina ou vice-versa. Mutações do tipo *frameshifts*, com duplicação e supressão de inserção, são mais raras³⁰.

Uma única mutação pode resultar na exclusão seletiva de um determinado medicamento da classe dos NRTI, um exemplo é a resistência de alto nível à lamivudina (3TC), que se desenvolve rapidamente após a mutação M184V^{12,39,40}. Mutações de resistência aos medicamentos análogos à timidina

(TAM) promovem a diminuição da susceptibilidade de outros inibidores nucleosídicos da transcriptase reversa³⁹, são elas: M41L, L210W, D67N, K70R, L210W T215Y/F, e K219 Q/E^{12,39,42,41}. A presença da mutação M184V, selecionada pela lamivudina modula o grau de resistência cruzada entre os medicamentos, por exemplo, esta mutação tende a reduzir a resistência à zidovudina, estavudina e ao tenofovir, enquanto aumenta a resistência a outros medicamentos, como o abacavir³⁹.

Ainda referente aos NRTI, estudos demonstram as seguintes mutações: L74V, que aparentemente causa resistência intermediária à ddI e ao ABC; Q151M, que causa resistência à maioria dos antirretrovirais da classe e ocorre acompanhada por outras mutações; e a K65R, que causa resistência intermediária à DDI, ABC, 3TC e d4T; e, notadamente, diminui a taxa de incorporação do TFV, porém, aumenta a sensibilidade ao AZT, diminuindo a eficiência do mecanismo de resistência a este medicamento^{28,31}.

São conhecidos dois tipos básicos de mecanismo de resistência aos NRTI: o mecanismo de exclusão e o de excisão. O primeiro, exclusão, é o mais comum, onde na presença da mutação ocorre uma diminuição da incorporação dos análogos a nucleosídeos. Um exemplo deste tipo de mecanismo ocorre quando temos a mutação M184V/I, neste caso, a enzima transcriptase reversa diminui a incorporação do análogo por impedimento estérico, dando preferência à citosina no lugar do 3TC^{42,27}. Outras mutações que também sofrem exclusão são L74V, K65R e Q151M. Porém, o mecanismo exato de resistência para estas mutações ainda não foi totalmente esclarecido (como no caso da mutação M184V/I), o que se sabe é que todas elas ocorrem em um local que afetam a ligação a um dNTP (importante para a replicação e transmissão do vírus)⁴².

Um segundo mecanismo é o de excisão, que envolve a remoção seletiva do NRTI após ter sido incorporado no final da cadeia de DNA^{42,27}. Este tipo de mutação ocorre com os análogos à timidina, um exemplo é quando a ZDV ao ser incorporada à cadeia na presença da mutação, sofre um processo de pirofosforólise, levando à retirada do último fósforo da cadeia, rompendo a ligação do análogo e substituindo-o pela timidina²⁷.

A resistência aos NNRTI desenvolve-se rapidamente na clínica. A maioria das mutações a esses antirretrovirais é encontrada em duas regiões dis-

tintas: códons 98-108 e códons 179-190³⁹. Uma única mutação pontual pode induzir resistência a todos os medicamentos aprovados desta classe^{39,42}, as mais frequentes são K103N^{12,42} e Y181C⁴².

Outras mutações observadas, que geram resistência a essa classe são: L100I, K101E, V106A, N108I, Y181I/V, Y188L/C/H, G190A/S e P225H^{28,41}. Elas podem ocorrer isoladas ou em combinação. As drogas de primeira e segunda geração provocam o rápido desenvolvimento da resistência viral, enquanto que a de terceira geração, como a etravirine (não disponível no Brasil), tem a vantagem de ser eficaz contra linhagens de HIV que carregam uma ou duas mutações. Entretanto, cepas virais com múltiplas mutações demonstram níveis significativos de resistência medicamentosa⁴².

Os inibidores de protease apresentam uma alta barreira genética, ou seja, a 'distância' genética para o desenvolvimento completo de resistência a esta classe de antirretrovirais é grande. Geralmente são necessárias três ou quatro mutações para gerar resistência a um PI, e quando este estiver associado ao uso de ritonavir só após oito ou dez mutações a resistência é estabelecida²⁷.

Em 2004, Cerqueira e colaboradores, conduziram um trabalho que avaliou a diversidade genética do HIV-1 no Distrito Federal e detectaram a I50V como principal mutação no gene da protease. Encontraram, ainda, outras mutações nos códons 10, 20, 36, 63, 71 e 77⁴³. Por outro lado, Cavalcante, avaliando 516 amostras de indivíduos que apresentaram falha durante terapia antirretroviral no nordeste do Brasil, encontrou uma maior prevalência de mutações para os PI nos códons 63, 36, 10 e 46. Além disso, relata que mutação no códon 90 é geralmente selecionada pelo saquinavir e nel-finavir e causa resistência a maioria dos inibidores de protease. A mutação 82, provocada pelo ritonavir e indinavir, surge em uma fase inicial de falha¹⁶.

O uso de ritonavir, quando associado a outros medicamentos inibidores de protease, aumenta a meia-vida destes e proporciona um menor risco de desenvolvimento de resistência^{20,44}.

CONCLUSÃO

A introdução da terapia de alta atividade antirretroviral (HAART) trouxe uma melhora significativa das taxas de morbidade e mortalidade dos pacientes portadores de HIV, havendo uma mudança

no perfil da doença para crônico-degenerativa. A seleção de cepas resistentes ameaça o andamento da terapia, tornando-se um grande problema para pacientes e médicos no tratamento da infecção. Uma alternativa para diminuir a utilização inadequada de medicamentos é o teste de genotipagem, realizado para auxiliar na escolha da terapia de resgate.

Considerando que as mutações e recombinações do vírus continuam a aumentar, é provável que muitos subtipos do HIV e CRF sejam descritos no futuro. É importante ressaltar a necessidade de uma equipe multidisciplinar para auxiliar os pacientes no que se refere à adesão ao tratamento, informando-os sobre a doença, as consequências da não-adesão e os possíveis efeitos adversos que podem ser ocasionados pela terapia, a fim de diminuir a seleção de cepas resistentes.

A melhor compreensão a respeito do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1), seu ciclo reprodutivo, mecanismo de resistência às drogas e principais tipos de mutações podem ser usados para desenvolver novos medicamentos, eficazes contra as atuais cepas resistentes, além de permitir a escolha do medicamento mais correto.

REFERÊNCIAS

1. Proietti ABFC, Barbosa EF, Silva JG, Carvalho AF, Kroon EG, Ferreira PCP. Genetic variability of HIV-1 isolates from Minas Gerais, Brazil. *Rev Microbiol.* 1999;30:141-143.
2. Ministério da Saúde. Epidemiologia: AIDS. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/data/Pages/LUMIS-D3352823ITEMID80FBE363C51842AAA02B89E-D8003A071PTBRIE.htm>. Acessado em: 10/abr/2009.
3. Janeway CA, Travers P, Walport M, Capra DJ. *Imunobiologia: o sistema imunológico na saúde e na doença.* 4ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 2000. p. 441-455.
4. Wigg MD. Vírus da imunodeficiência humana. In: Santos NOS, Romanos MTV, Wigg MD. *Introdução à virologia humana.* 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008. p. 410- 447.
5. Rang HP, Ritter JM, Dale MM. *Farmacologia.* 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003. p. 746-747.

6. Unaid. AIDS epidemic update 2009. Disponível em: http://data.unaids.org/pub/Report/2009/JC1700_Epi_Update_2009_en.pdf. Acessado em: 20/mar/2010.
7. BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim epidemiológico DST e AIDS. Brasília: Ministério da Saúde. 2008. p. 1-64.
8. Helbert M, Breuer J. Monitoring patients with HIV disease. *J Clin Path.* 2000;53(4):266-272.
9. International Committee on Taxonomy of Viruses. Virus Taxonomy: 2009 Release. Disponível em: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp?bhcp=1> Acessado em: 25/Nov/2010.
10. Melo EB, Bruni AT, Ferreira MMC. HIV-integrase inhibitors: potential pharmacological approach for AIDS therapy. *Quím Nova.* 2006;29(3): 555-562.
11. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Manual de genotipagem de HIV. São Paulo: Applied Biosystems do Brasil; 2002. p. 1-16.
12. Raffanti S, Haas DW. Antimicrobianos (continuação) agentes antirretrovirais. In: Gilman AG, Goodman LS. *As bases farmacológicas da terapêutica.* 9ª ed. Rio de Janeiro: McGraw – Hill; 1996. p. 1011-1027.
13. D'Arrigo R, Ciccozzi M, Gori C, Montieri S, Aquaro S, Bellagamba R, et al. Gp41 sequence variability in HIV type 1 non-B subtypes infected patients undergoing enfuvirtide pressure. *Aids Res Human Retrovirus.* 2007;23(10):1296-1302.
14. Requejo HIZ. Worldwide molecular epidemiology of HIV: epidemiologia molecular do HIV no mundo. *Rev Saúde Pública* 2006;40(2):331-45
15. Pinto ME, Struchiner CJ. A diversidade do HIV-1: uma ferramenta para o estudo da pandemia. *Cad. Saúde Pública.* 2006;22(3):473-484.
16. Cavalcanti AMS, Lacerda RH, Brito AM, Pereira S, Medeiros D, Oliveira S. Antiretroviral resistance in individuals presenting therapeutic failure and subtypes of human immunodeficiency virus type 1 in the northeast region of Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2007;102(7):785-792.
17. Sethi AK, Celentano DD, Gange JG, Moore RD, Gallant JE. Association between adherence to antiretroviral therapy and human immunodeficiency virus drug resistance. *HIV/AIDS.* 2003;37: 1112-1118.
18. Lucas GM. Antiretroviral adherence, drug resistance, viral fitness and HIV disease progression: a tangles web is woman. *J Antimicrobial Chemotherapy.* 2005;55:413-416.
19. BRASIL. Ministério da Saúde. Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV: 2005/2006. 6ª ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2007. p. 5-42.
20. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos infectados pelo HIV: 2008. 7ª ed. Brasília: Ministério da Saúde; 2008. p. 31-60.
21. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretária de Vigilância em Saúde. Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos infectados pelo HIV: suplemento II critérios para p início do tratamento antirretroviral. Brasília: Ministério da Saúde, fev.2010. p. 1-28.
22. Vrijens B, Goetghebeur EL, Klerk E, Rode R, Mayer S, Urquhart J. Modelling the association between adherence and viral load in HIV-infected patients. *Statistics in Medicine.* 2005;24:2719-2731.
23. Ministério da Saúde. Manual de carga viral do HIV-1. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/data/documents/storedDocuments/%7BA07528E1-7FB7-4CC7-97AD-B7CB17C9CA85%7D/%7B84103763-60FE-49A7-AAE7-5E6798FF6ABA%7D/Manual%20de%20Carga%20Viral%20HIV%20-%201.pdf>. Acessado em: 28/mai/2009.
24. Peçanha EP, Antunes OAC, Tanuri A. Estratégias farmacológicas para a terapia anti-AIDS. *Quím Nova.* 2002;25(6b):1108-1116.
25. Carvalho CV. Adesão ao tratamento anti-retroviral em Brasília-DF: 2006-2007. [tese de mestrado]. Faculdade de Ciências da Saúde da UnB; 2008.
26. Norma técnica nº 307. Dispõe sobre critérios para a indicação de raltegravir 400mg (RAL). Ministério da Saúde. 2008.
27. Diaz RS. Resistência ao Tenofovir. *Prática Hospitalar.* 2007;53:53-58.

28. Shafer RW, Schapiro JM. HIV-1 Drug Resistance Mutations: an Updated Framework for the Second Decade of HAART. *Rev AIDS*. 2008;10:67-84.
29. Lei nº 9.313. Dispõe sobre a distribuição gratuita de medicamentos aos portadores do HIV e doentes de AIDS. *Diário Oficial da União*. 1996; 13 nov.
30. Figlerowicz M, Alejsk M, Kurzynska-Kokorniak A, Figlerowicz M. Genetic variability: the key problem in the prevention and therapy of RNA-based virus infections. *Med Res Rev*. 2003;23(4):488-518.
31. Bartlett JA. Addressing the challenges of adherence. *J Acquired Immune Deficiency Syndromes*. 2002;29:S2-S10.
32. Vervoort SCJM, Borleffa JCC, Andy IM, Hoepelmana AIM, Grypdonckb MHF. Adherence in antiretroviral therapy: a review of qualitative studies. *AIDS*. 2007;21:271-281.
33. Panel de expertos de Secretaría del Plan Nacional sobre el SIDA (SPNS). Mejorar la adherencia al tratamiento antiretroviral. Recomendaciones de La SPNS/SEFH/GESIDA. *Farm Hosp* 2008;32(6):349-357.
34. Knobel H, Urbina O, González A, Sorli ML, Montero M, Carmona A, Guelar A. Impact of different patterns of nonadherence on the outcome of highly active antiretroviral therapy in patients with long-term follow-up. *HIV Med*. 2009;10:1468-1293.
35. Roberson DW, White BL, Fogel CL. Factors Influencing Adherence to Antiretroviral Therapy for HIV-Infected Female Inmates. *J Ass Nurses in AIDS Care*. 2009;20(1):50-61.
36. Garvier PA, Joanne L, Patricia M, Aditya HG, Marvin B, George DM. Development of a directly observed therapy adherence intervention for adolescents with human immunodeficiency virus-1: application of focus group methodology to inform design, feasibility, and acceptability. *J Adolescent Health*. 2009;44(2):124-132.
37. Levy RW, Rayner CR, Fairley CK, Kong DCM, Mich A, Costello K, et al. Multidisciplinary HIV adherence intervention: a randomized study. *AIDS PATIENT CARE and STDs*. 2004;18(12):728-735.
38. Fernandes JCC, Silva-de-Jesus C, Veloso VG, Rachid M, Gracie RSG, Chequer-Fernandez SL et al. Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genotyping in Rio de Janeiro, Brazil: assessing subtype and drug-resistance associated mutations in HIV-1 infected individuals failing highly active antiretroviral therapy. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2005;100(1):73-78.
39. Sebastian J, Faruki H. Update on HIV resistance and resistance testing. *Med Res Rev*. 2004;24(1):115-125.
40. Pillay D, Taylor S, Richman DD. Incidence and impact of resistance against approved antiretroviral drugs. *Rev Med Virol*. 2000;10:231-253.
41. Johnson VA, Brun-Vézinet F, Clotet B, Güntha HF, Kuritzkes DR, et al. Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1: December 2009. *Rev International AIDS Society-USA*. 2009; 17(5):138-145.
42. Sarafianos SG, Marchand B, Das K, Himmel DM, Parniak MA, Hughes SH, et al. Structure and function of HIV-1 reverse transcriptase: molecular mechanisms of polymerization and inhibition. *J Mol Biol*. 2009;385:693-713.
43. Cerqueira DM, Amorim RMS, SilvaRR, Camara GNL, Brígido MM, Martins CRF. Antiretroviral resistance and genetic diversity of human immunodeficiency virus type 1 isolates from the Federal District, Central Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2004;99(8):877-882.
44. Machado DM, Fernandes FC, Succi RCM, Freire WS, Pannuti CS, Gouveia AB, et al. Analysis of HIV-type 1 protease and reverse transcriptase in Brazilian children failing highly active antiretroviral therapy (HAART). *Rev Inst Med Trop*. 2005;47(1):1-5.

Artigo apresentado como trabalho de conclusão do Curso de Farmácia da Universidade Católica de Brasília em junho de 2009.