

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

Ivete Terezinha Machado da Rocha

**Investigação de Polimorfismos
Genéticos Associados aos Efeitos
Adversos da Terapia Antirretroviral
Relacionados à Nefrotoxicidade em
Pessoas Vivendo com HIV e AIDS.**

UFCS
Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre

Porto Alegre

2014

Ivete Terezinha Machado da Rocha

Investigação de Polimorfismos Genéticos Associados aos Efeitos Adversos da Terapia Antirretroviral Relacionados à Nefrotoxicidade em Pessoas Vivendo com HIV e AIDS.

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para obtenção do grau de Doutor

Orientador: Dra. Vanessa Suñé Mattevi

Porto Alegre

2014

AGRADECIMENTOS E DEDICATÓRIA

Primeiramente a **Deus** e a todos os espíritos protetores por me ajudarem na realização desse trabalho proporcionando-me evoluir através dessa experiência.

Aos **pacientes HIV/AIDS**, razão da existência dessa pesquisa, objetivo maior desse trabalho. Agradeço pela confiança e disponibilidade de suas vidas. Que essa pesquisa possa contribuir para aliviar a dor e angústia dos pacientes com HIV-AIDS.

A **Marieli** filha amada, por me fazer aprender sobre o maior amor, por ser a minha razão de viver, dando luz ao meu caminho e colorindo o meu jardim de existência. Ao meu esposo **Juan**, por seu amor, amizade, segurança, companheirismo, estabilidade e incentivo nessa trajetória. Aos dois por estarmos juntos e sermos uma família unida, nos apoiando, e nos amando incondicionalmente, fazendo disso o nosso porto seguro. Agradeço a eles por me permitirem roubar horas do tempo, o qual deveria ter dedicado a eles.

Agradecer aos **meus pais**, (*in memoriam*) por terem me educado e terem em assumido o compromisso de me fazer evoluir nessa vida, me ensinando valores éticos e morais e me fazendo me entender o quanto é importante aprender e valorizar o conhecimento. Agradeço também a toda minha família, especialmente aos meus irmãos, sempre presentes nessa trajetória, nas horas alegres como nas tristes.

Aos **meus amigos**, companheiros espirituais por apoiar nessa jornada e me intuírem a seguir o melhor caminho nas horas difíceis.

Aos **colegas de trabalho** da FEPPS e do programa de pós-graduação em Patologia, pelo apoio, companheirismo, incentivo e troca de experiência, fundamentais ao meu crescimento.

A **UFCSPA** a instituição que me acolheu para desenvolver o projeto e aos professores, amigos e mestres, pela dedicação no repasse dos conhecimentos e aos colegas do programa de Pós-graduação em Patologia, pela atenção, carinho e ajuda nas horas das dificuldades.

Pelos **funcionários do Programa** de pós-graduação em patologia, especialmente a **Maristela**, pela sua presteza, carinho, competência e dedicação ao trabalho.

A Instituição **FEPPS-IPB/LACEN** e aos seus dirigentes por entender a importância desse trabalho permitindo que eu dedicasse horas de trabalho, neste projeto.

As colegas de laboratório, **Grazi e Magda** pela atenção, dedicação, amizade, e ajuda nas análises das amostras.

A minha querida orientadora, **Prof. Dra. Vanessa Suñé Mattevi**, pela disponibilidade, pelo exemplo de profissional dedicada, prestativa e incondicionalmente presente em doar os seus conhecimentos. Agradeço também pelo carinho, amizade, pela oportunidade e pela confiança em acreditar nesse projeto. Com a certeza de que sem a sua ajuda, não seria possível realizar esse essa tarefa.

Ao **Prof. Dr. Eduardo Sprinz**, profissional médico dedicado aos seus pacientes, pela confiança depositada em mim na realização desse trabalho.

E finalmente, não menos importante ao **Programa Nacional de DST/AIDS**, **UNESCO**, ao **CNPq** e à **FAPERGS**, pelo auxílio financeiro dessa pesquisa.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas.....	VII
Lista de Figuras.....	IX
Lista de Tabelas.....	X
Resumo.....	XII
1. Introdução.....	1
1.1. Aspectos gerais do HIV e da AIDS.....	1
1.2. Classes dos Antirretrovirais.....	4
1.3. TARV e Disfunção Renal.....	7
1.3.1. Taxa de filtração glomerular e doença renal crônica.....	8
1.3.2. Efeitos renais do tenofovir.....	13
1.3.3. Efeitos renais dos inibidores da protease.....	15
1.4. Farmacogenômica.....	17
1.4.1. Transportadores Renais e Disfunção Renal.....	21
1.4.2. Ação dos antirretrovirais sobre os transportadores renais.	23
1.4.3. Genes associados aos efeitos renais da TARV.....	25
1.4.3.1. Gene ABCB1.....	25
1.4.3.2. Gene ABCC2.....	28
1.4.3.3. Gene ABCC4.....	29
1.4.3.4. Genes SLC22A6 e SLC22A11.....	30
2. Referências Bibliográficas.....	33
3. Justificativa e Objetivos.....	49

4. Artigo Científico.....	51
5. Considerações Finais.....	90
6. Anexos.....	92
6.1. Parecer consubstanciado.....	92

LISTA DE ABREVIATURAS

ABC	Abacavir
AIDS	Síndrome da imunodeficiência adquirida
AMP	Amprenavir
ARV	Antirretroviral
ATV	Atazanavir
AZT	Zidovudina
CCD	Centro de Controle de Doenças
DRC	Doença Renal crônica
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DLT	Dolutegravir
COBI	Cobicistat
CKD-EPI	<i>Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration</i>
d4T	Estavudina
dDI	Didanosina
EFZ	Efavirenz
ETR	Etravirina
FPV	Fosamprenavir
hOATs	Transportadores de ânions orgânicos
HAART	Terapia antirretroviral altamente eficaz
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IDV	Indinavir
IRA	Insuficiência renal aguda
IP	Inibidor da protease
IF	Inibidor de fusão
ITRNs	Inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos
ITRNNs	Inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeo
INN	Emtricitabina
3TC	Lamivudina
LPV/r	Lopinavir/ritonavir

MATE	Proteína de extrusão de toxinas 1
MDRD	<i>Modified diet in renal disease</i>
MRP1	Proteína de resistência a múltiplas drogas 1
NVP	Nevirapina
OCT1	Transportador de cátions orgânicos 1
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RAL	Raltegravir
RPV	Rilpivirina
RNA	Ácido ribonucleico
RTV	Ritonavir
SQV	Saquinavir
TDF	Tenofovir disoproxilfumarato
DRV	Darunavir
TFG	Taxa de filtração glomerular
TPV	Tipranavir
T-20	Enfuvirtida
TARV	Terapia antirretroviral
UNAIDS	Plano Integrado da Organização das Nações Unidas em resposta à AIDS

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo da replicação viral do HIV, DNA, ácido desoxirribonucleico RNA e ácido ribonucleico.....	7
Figura 2. A formação da urina resulta da filtração glomerular.....	9
Figura 3. A molécula de DNA (1) difere da molécula de DNA (2) em um par de bases individual (polimorfismo C/T).....	20

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Estágios da Doença Renal Crônica (DRC).....	12
Tabela 2.	Antirretrovirais e Efeitos Adversos Renais.....	17
Tabela 3.	Estudos de Associação de Polimorfismos Genéticos nos Transportadores Renais e Disfunção Renal em pacientes Infectados pelo HIV.....	27

Polymorphisms associated with renal adverse effects of antiretroviral therapy in people living with HIV

Table 1.	Characteristics of the study population.....	82
Table 2.	Prevalence of alteration in the renal function according to Kidney Disease Outcomes Quality Initiative, assessed by CKD-EPI in 497 HIV patients.....	84
Table 3.	Genotype and allele frequencies of the polymorphisms analyzed according to ethnic group.....	85
Table 4.	Mean estimated glomerular filtration rate according to genotypes of the SNPs analyzed.....	87
Table 5.	Predictor of chronic kidney disease in HIV infected patients Treated with antiretrovirals.....	89

RESUMO

Introdução: A terapia antirretroviral combinada (TARV) é amplamente utilizada no tratamento de pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). No entanto, o seu uso tem sido associado com o desenvolvimento de várias complicações graves, incluindo a disfunção renal tubular.

Objetivos: Investigar polimorfismos nos genes que codificam proteínas transportadoras de fármacos nas células tubulares renais hOAT1, hOAT4, MRP2, MRP4 e glicoproteína P e sua associação com os efeitos adversos renais decorrentes do uso da TARV em pessoas vivendo com HIV.

Materiais e Métodos: Foram recrutados consecutivamente 507 pacientes infectados pelo HIV recebendo TARV em um serviço de referência no Rio Grande do Sul. A análise dos polimorfismos genéticos foi realizada pela reação em cadeia da polimerase em tempo real. Os polimorfismos investigados foram: (*ABCB1*) PgP 3435C>T (rs1045642); (*ABCC2*) MRP2 -24C>T (rs717620) e 1249G>A (rs2273697); (*ABCC4*) MRP4 3463A>G (rs1751034) e 4131T>G, (rs3742106); (*SLC22A6*) hOAT1 728G>A (rs11568626); e (*SLC22A11*) hOAT4~20kb T> A (rs11231809).

Resultados: Dos 507 pacientes, 54% eram homens, 55% foram caracterizados como euro-descendentes e sua idade média foi de 43 ± 10 anos. Noventa e cinco (19,1%) pacientes apresentaram uma redução leve na taxa de filtração glomerular estimada (eTFG) e 16 (3,2%) pacientes preencheram os critérios doença renal crônica (DRC). Portadores do alelo T do gene *ABCB2* na posição -24 apresentaram uma redução significativa na eTFG quando comparados com

homozigotos C/C (104 ± 22 ml/min/ $1,73\text{m}^2$ vs. 108 ± 22 ml/min/ $1,73\text{m}^2$; teste T para amostras independentes, $P = 0,040$). A regressão linear multivariada mostrou que os preditores significativos para a redução da TFG foram idade, o uso do tenofovir, uso de atazanavir potenciado com ritonavir e também o alelo T do gene *ABCC2* -24 C>T.

Conclusões: Nossos resultados indicam que, dos sete polimorfismos investigados, apenas *ABCC2* -24 C> T está associado com a disfunção renal.

Palavras Chave: HIV, polimorfismo, antirretrovirais e disfunção renal.

1. INTRODUÇÃO

A terapia antirretroviral combinada (TARV ou HAART, do inglês, *highly active antiretroviral therapy*) foi introduzida em 1996 e desde então é usada para o tratamento de pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). A TARV é uma combinação de pelo menos três fármacos antirretrovirais (ARVs) e sua introdução levou a uma diminuição drástica da morbidade e mortalidade causadas pela infecção pelo HIV, modificando radicalmente o prognóstico dos infectados (Henry, 2012; Marins e cols., 2003; Mwangomba e cols, 2010; Palella e cols, 1998). Entretanto, o seu uso tanto em curto prazo como em longo prazo tem sido associado ao desenvolvimento de severas complicações, entre elas a disfunção e toxicidade renais (Calza 2012).

Os agentes ARVs mais fortemente associados com nefrotoxicidade direta incluem o inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeos tenofovir (TDF) e o inibidor da protease indinavir (IDF), embora outros agentes tenham sido implicados com menos frequência (Brennan e cols, 2011; Rho e cols, 2007).

1.1. Aspectos gerais do HIV e da AIDS

A AIDS é uma pandemia causada por um retrovírus, o HIV. Ela foi descoberta em junho de 1981, quando o Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos (CDC) registrou os primeiros casos de uma enfermidade considerada na época um mistério. Um ano depois, ela recebe o nome provisório de doença dos 5H, em razão de casos registrados em homossexuais, hemofílicos, haitianos, heroinômanos (usuários de heroína injetável) e prostitutas

(*hookers* em inglês). Em 1984, a equipe do virologista francês Luc Montagnier isolou e caracterizou um retrovírus como o causador da doença (Papadopoulos e cols, 2004).

A infecção provoca destruição progressiva do sistema imune mediado por células, principalmente pela eliminação de linfócitos CD4 + T-*helper*. Os vírus dessa família contêm um genoma composto de duas fitas de ácido ribonucleico (RNA), sendo esse material convertido em ácido desoxirribonucleico (DNA) no interior da célula do hospedeiro através da enzima transcriptase reversa, o que leva a uma desorganização e conseqüente destruição do sistema imunológico (Barre-Sinoussi e cols. 1983; Schwartz e Nair, 1999). A diminuição da imunidade leva às infecções oportunistas e a certos tipos de câncer. O HIV também age diretamente causando danos em certos órgãos, como o cérebro. A infecção pelo HIV passa por uma série de etapas ou fases antes de se transformar em AIDS, caracterizada por imunodeficiência severa (Cao e cols, 1995).

A AIDS é uma doença que possui grande impacto na sociedade contemporânea. Passados trinta anos desde a identificação da sua etiologia, ela ainda continua a ser um dos desafios mais graves em saúde. Apesar de, no mundo, a incidência da AIDS continuar a diminuir, nacionalmente a epidemia continua a se expandir. Segundo relatório do Plano Integrado da Organização das Nações Unidas em resposta à AIDS (UNAIDS) e da Organização Mundial da Saúde (OMS), até o final de 2012, existiam 35,3 milhões de pessoas no mundo vivendo com HIV/AIDS. O número de surgimento de novos casos em 2012 foi de 2,3 milhões e a estimativa de mortalidade foi de 1,6 milhões (UNAIDS, 2013, Ministério da Saúde, 2013). Estima-se que 0,8% dos adultos de idade entre 14 e 49 anos da população mundial vivam com o HIV. Apesar da

prevalência de epidemia entre os países e regiões ser muito variada, a África subsaariana continua a ser a mais afetada, com cerca de um para cada 20 adultos, ou seja, 4,9% da população. Depois da subsaariana, as regiões mais afetadas são o Caribe, Europa Oriental e Ásia Central, onde 1,0% dos adultos estavam vivendo com o HIV em 2011.

Em 2011, 1,7 milhões de pessoas em todo o mundo morreram por causas relacionadas com a AIDS. Na América Latina, em 2011 havia 1,4 milhões de adultos e crianças vivendo com HIV. No Brasil, desde o início da epidemia, em 1980, até junho de 2012 temos 656.701 casos registrados de AIDS. Em 2012, foram notificados 39.185 casos da doença e a taxa de incidência de AIDS no Brasil foi de 20,2 casos por 100 mil habitantes. A maior taxa de detecção foi observada na Região Sul, com 30,9/100.000 habitantes, seguida pela Região Norte (21,0), Região Sudeste (20,1), Região Centro-Oeste (19,5) e Região Nordeste (14,8). Em relação à taxa de mortalidade, houve sinalização de queda. Em 2002, eram 6,3 por 100 mil habitantes, passando para o coeficiente de 5,5 em 2012. A taxa de prevalência de HIV na população em geral é 0,4%, em homens é de 0,5%, em mulheres de 0,3% e em homens que fazem sexo com homens, 10,5% (Ministério da Saúde, 2013).

Além da enorme tragédia humana associada com o HIV e AIDS, os custos econômicos da epidemia são surpreendentes, o que representa um sério impedimento para o crescimento e a estabilidade econômica de muitos países em desenvolvimento. Estima-se que o custo econômico mundial anual da infecção pelo HIV seja de 14 bilhões de dólares levando em conta os custos associados com a prevenção e tratamento (UNAIDS, 2013).

1.2. Classes dos Antirretrovirais

A TARV iniciou em 1986, com o uso da zidovudina (AZT), inibidor da transcriptase reversa do HIV, testada previamente em doenças oncológicas (Lopes, 2007). O tratamento da infecção pelo HIV tem evoluído continuamente e mudado sensivelmente a história natural da AIDS (Focaccia, 2007). Os inibidores da transcriptase reversa foram a primeira classe de fármacos introduzidos como agentes para o tratamento do HIV e têm sido a base da terapia anti-HIV (Lavra, 2006). Com o advento da TARV, manifestações clínicas decorrentes da infecção pelo HIV tornaram-se menos frequentes e houve melhora substancial no prognóstico dos pacientes com AIDS (Fauci, 1999). A disponibilidade de diferentes classes de fármacos ARVs e o uso em combinação de três ou mais deles transformou o tratamento dos indivíduos com AIDS, de tal modo que a morbidade e mortalidade declinaram acentuadamente (Ministério da Saúde, 2013).

Na atualidade, dispõe-se de um número grande e crescente de agentes ARVs para o tratamento de pacientes infectados principalmente por HIV-1 (Katzung, 2006; Rouse e cols, 2004). Todas as etapas no ciclo de replicação do HIV são alvos potenciais para uma droga antiviral (Rouse e cols, 2004). Elas não matam o HIV, mas ajudam a evitar o enfraquecimento do sistema imunológico. Por isso, seu uso é fundamental para aumentar o tempo e a qualidade de vida de indivíduos que têm AIDS. Desde 1996, o Brasil distribui gratuitamente a TARV para todos os que necessitam do tratamento. Segundo dados de dezembro de 2012, 313 mil pessoas recebiam regularmente os medicamentos para tratar a doença (Ministério da Saúde, 2013). Existem 21 medicamentos divididos em cinco classes de ARVs. A primeira é a dos inibidores da transcriptase

reversa, análogos de nucleosídeos (ITRNs), que atuam na enzima transcriptase reversa, incorporando-se à cadeia de DNA que o vírus cria (Fig.1). Tornam essa cadeia defeituosa, impedindo que o vírus se reproduza. São eles: abacavir (ABC), didanosina (ddl), estavudina (d4T), lamivudina (3TC), tenofovir (TDF), zidovudina (AZT) e a combinação 3TC/AZT. A segunda classe é a dos inibidores da transcriptase reversa, não análogos de nucleosídeos (ITRNNs), que bloqueiam diretamente a ação da enzima e a multiplicação do vírus. São eles: efavirenz (EFZ), nevirapina (NVP) e etravirina (ETR) (Departamento de DST. Aids e Hepatites Virais, 2014).

A terceira classe corresponde aos inibidores da protease (IPs), que atuam nesta enzima, bloqueando sua ação e impedindo a produção de novas cópias de células infectadas com HIV (Fig.1). São eles: atazanavir (ATV), darunavir (DRV), fosamprenavir (FPV), indinavir (IDV), lopinavir/ritonavir (LPV/r), nelfinavir (NFV), ritonavir (RTN), saquinavir (SQV) e tipranavir (TPV). Os inibidores de fusão (IFs) impedem a entrada do vírus na célula e, por isso, ele não pode se reproduzir. O fármaco desta classe é a enfuvirtida (T-20). A quinta e última classe compreende os inibidores da integrase, cujos representantes, o raltegravir (RAL) e dolutegravir (DLT), aprovados em agosto de 2013, ainda não são utilizados no Brasil. Eles bloqueiam a atividade da enzima integrase, responsável pela inserção do DNA do HIV ao DNA humano. Assim, inibem a replicação do vírus e sua capacidade de infectar novas células (Hughes 1999). Cobicistat (COBI) é um potente inibidor das enzimas do citocromo P-450, incluindo o subtipo CYP3A4. Também inibe as proteínas de transporte intestinal, aumentando a absorção global de vários medicamentos para o HIV, incluindo, ATV, DRV e TDF (Elion e cols. 2010; Highleyman, 2003). Foi aprovado

pelo FDA em agosto de 2012 para uso nos Estados Unidos, mas ainda não é usado no Brasil.

Para combater o HIV é necessário utilizar pelo menos três ARVs combinados, sendo dois medicamentos de classes diferentes, que poderão ser combinados em um só comprimido (Hughes, 1999; Ministério da Saúde, 2013). Atualmente, o preconizado pelo Ministério da Saúde é o início do tratamento com dois ITRNs associados a um ITRNN (primeira linha de tratamento). Em situações em que o uso de EFZ e NVP esteja impossibilitado, deve-se proceder a sua substituição por um IP, de modo que o esquema ARV fique estruturado da seguinte forma: 2 ITRNs + IP/r. O LPV/r é a opção preferencial na classe dos IPs (Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais, 2014).

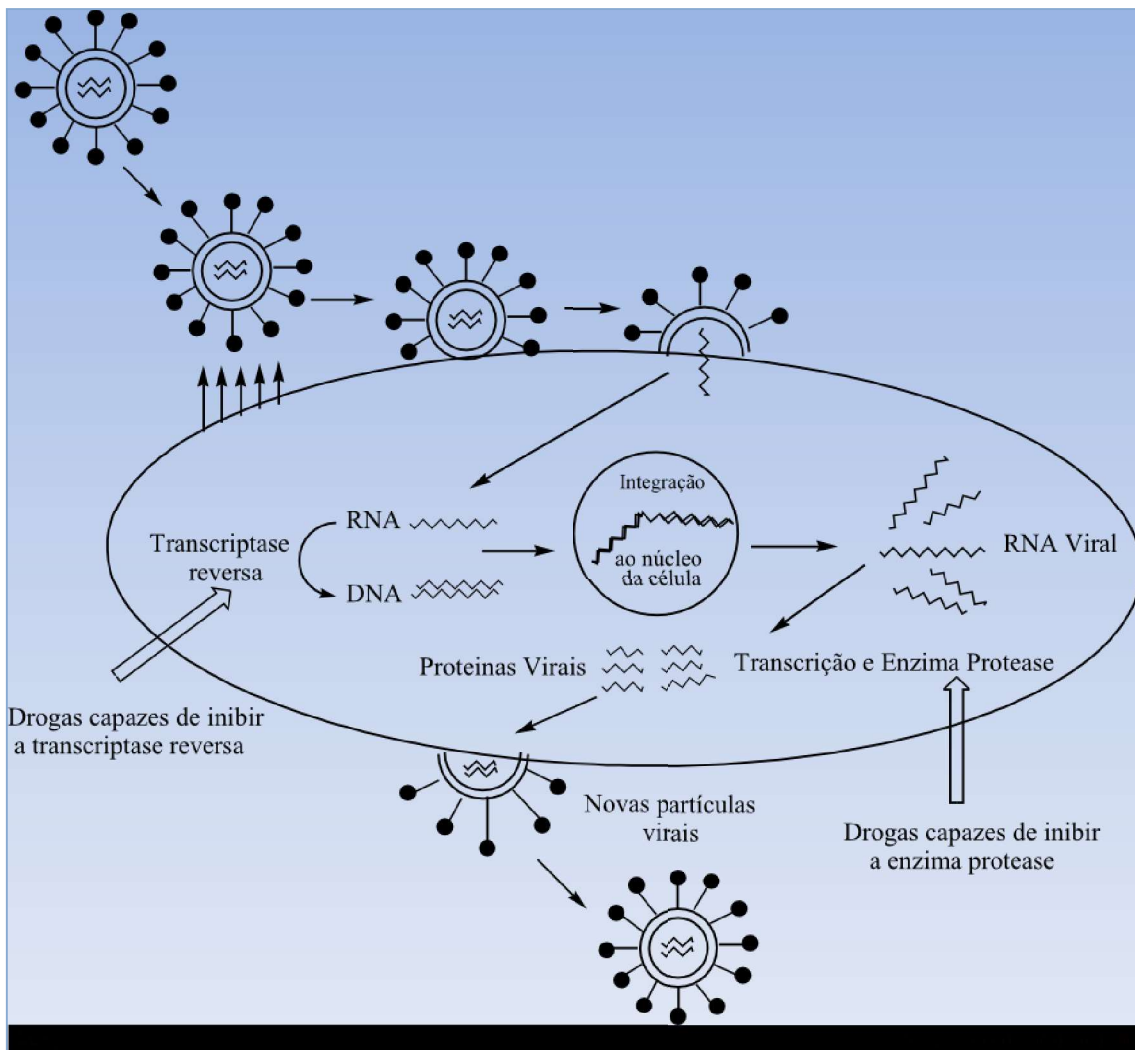


Figura 1. Ciclo da replicação viral do HIV. DNA, ácido desoxirribonucleico, RNA, ácido ribonucleico. Disponível em: <http://qnint.sbg.org.br/qni/visualizarTema.php?idTema=41>, acessado 25 de julho de 2014.

1.3. Terapia Antirretroviral e Disfunção Renal

A introdução generalizada da TARV alterou drasticamente o curso da infecção pelo HIV, modificando o seu prognóstico positivamente. Embora a TARV tenha proporcionado melhora da sobrevida e redução das doenças definidoras da AIDS e também reduzido drasticamente a mortalidade e morbidade, a exposição a longo prazo tem sido associada a uma série de efeitos adversos. Dentre esses efeitos, a doença renal aguda e crônica está se tornando

uma comorbidade cada vez mais prevalente em pacientes com HIV1 e HIV2 (Calza, 2012; Carter e cols. 2011; Izzedine e cols. 2006).

1.3.1. Taxa de filtração glomerular e doença renal crônica

A etapa inicial na formação da urina ocorre através da passagem do sangue arterial sob alta pressão através dos capilares do glomérulo renal. Juntamente com parte do plasma, moléculas pequenas como sais, vitaminas, açúcares e aminoácidos saem do glomérulo e entram na cápsula de Bowman, enquanto células e moléculas maiores, como as proteínas, não são filtradas (Guyton e Hall, 2006; fig. 2).

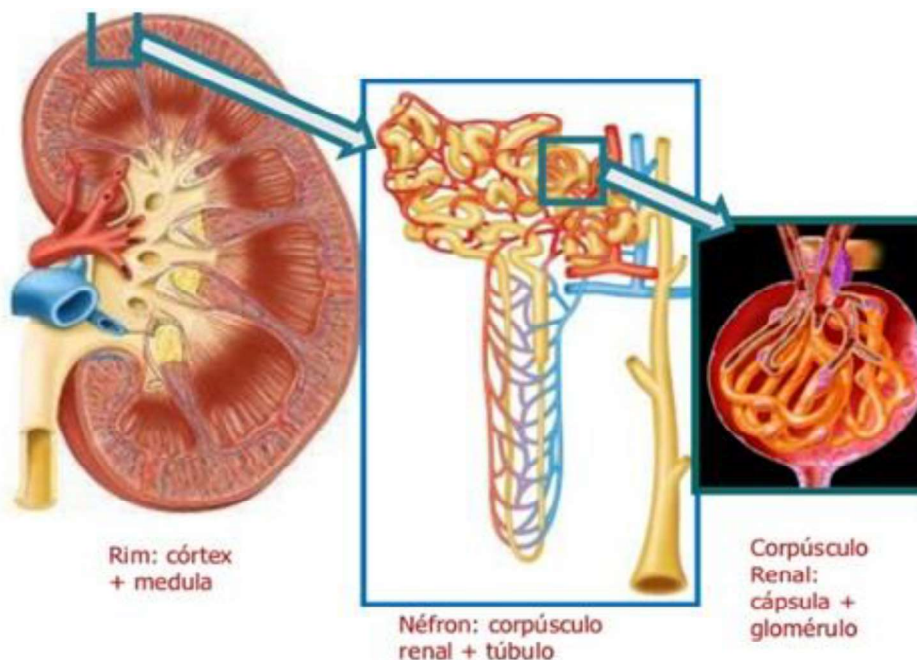


Figura 2. A formação da urina resulta da filtração glomerular. Adaptado de (Guyton e Hall, 2006)

A taxa de filtração glomerular (TFG) é um parâmetro para avaliação da função renal que mede o volume de água filtrada fora do plasma que passa pelas paredes dos capilares glomerulares nas cápsulas de Bowman por unidade de tempo. O método de referência (padrão-ouro) para a medida da TFG é o *clearance* da inulina. A TFG é determinada pela injeção da inulina no plasma. Segundo Barbosa e cols. (2008) uma vez que essa substância não existe naturalmente no organismo e não é reabsorvida pelo rim após a sua filtração glomerular, sua taxa de excreção é diretamente proporcional à taxa de filtração de água e solutos ao longo do filtro (Barbosa e cols, 2008). No entanto, a avaliação laboratorial deste parâmetro na prática clínica é dificultada pelo custo, disponibilidade, riscos e tempo consumido neste processo, razões pelas quais a depuração da creatinina endógena é mais comumente utilizada. Entretanto, para a sua medição é necessária uma amostra de urina de 24 horas. Por esta razão, diferentes equações foram elaboradas para fornecer uma estimativa rápida da TFG, através incorporação de parâmetros demográficos (etnia, idade e sexo) e antropométricos em adição à concentração sérica de creatinina nas mesmas (Florkowski e cols, 2011).

Em 1976, Cockcroft e Gault publicaram uma equação para prever a TFG baseada na idade, peso, altura e creatinina plasmática. Embora útil, ela possui algumas limitações, pois seu estudo foi baseado em uma maioria de homens hospitalizados e incluiu apenas nove mulheres que tinham doença renal crônica (DRC). Além disso, a necessidade do peso e da altura restringe o seu uso (Cockcroft e Gault, 1976).

A MDRD (*Modification of Diet in Renal Disease*) é uma equação que foi baseada em um estudo multicêntrico realizado para avaliar o efeito direto de uma

dieta com restrição de proteínas e controle da pressão arterial na progressão da doença renal em 1.628 pacientes com DRC, com o objetivo de prever a TFG levando em conta a creatinina plasmática. Para estabelecer a equação, foi usada a medida de depuração de creatinina endógena por 24 horas, a medida de creatinina no soro, idade, sexo e etnia negra ou branca. Os resultados foram simplificados em uma fórmula e expressos por $1,73 \text{ m}^2$ de área de superfície corporal (Levey e cols, 1999). A vantagem dessa equação sobre a de Cockcroft e Gault foi a não necessidade de peso e altura, tornando o seu uso preferencial. Essa fórmula foi validada em pacientes diabéticos com doença renal, transplantados e afroamericanos sem doença renal, diabéticos. Dado que a equação se originou de pacientes com doença renal, o seu uso para pacientes com início de disfunção renal, menores de 18 anos, grávidas e pacientes acima de 70 anos permanece restrito. Levando em conta a epidemia global de obesidade, a equação MDRD também não foi validada para pesos extremos. Apesar disso, em vários estudos a fórmula MDRD tem sido mostrada como superior, quando comparada com a de Cockcroft e Gault (Florkowski e cols, 2011, Poggio e cols, 2005).

Visto que a equação MDRD foi desenvolvida em uma população com função renal abaixo do ideal, a sua precisão na previsão da TFG é melhor refletida em doentes com insuficiência renal moderada. Reconhece-se que a MDRD tende a subestimar a função renal em pacientes com uma taxa de filtração glomerular normal (acima de $90 \text{ ml/min/1,73m}^2$). Em resposta a estas preocupações, em 2009 o Grupo de Colaboração na Epidemiologia da Doença Renal Crônica (*Chronic Kidney Disease Epidemiological Collaboration*, CKD-EPI) desenvolveu e validou uma nova equação, projetada para combinar com a

precisão da equação MDRD em TFG inferior a 60 ml/min/1,73m² e oferecer maior precisão em taxas de filtração glomerular normal, minimizando o excesso de diagnóstico de DRC pela equação MDRD (Levey e cols, 2009). Segundo estudo de Ibrahim e cols. (2012), a equação CKD-EPI é mais recomendada para estimar a TFG em pacientes HIV positivos, uma vez que a MDRD tende a superestimar o grau de dano renal nestes pacientes (Ibrahim e cols, 2012).

A DRC consiste na perda progressiva da função renal ao longo de meses ou anos, sendo identificada por uma estimativa da taxa de filtração glomerular inferior a 60 ml/min./1.73m² e/ou proteinúria e está presente em aproximadamente 17% dos pacientes HIV positivos (Post e Holt, 2009). De acordo com o *National Collaborating Centre for Chronic Conditions* do Reino Unido (*Chronic kidney disease: national clinical guideline for early identification and management in adults in primary and secondary care*, London: Royal College of Physicians, September 2008 (NICE, 2008). A DRC pode ser classificada em 5 estágios (Tabela 1).

Tabela 1. Estágios da doença renal crônica (DRC)

Estágio	Descrição	TFG (ml/min/1,73m²)
1	Dano renal com TFG glomerular normal ou diminuída	≥90
2	Dano renal com pequena redução da TFG	60-89
3	Redução moderada da TFG	30-69
4	Redução severa da TFG	15-29
5	Falha renal	<15

A DRC é definida como um dano renal (proteinúria, hematúria ou anormalidade anatômica) ou TFG <60 ml/min/1.73m² em pelo menos duas ocasiões em tempo igual ou superior a 3 meses. Doentes infectados pelo HIV podem sofrer dano renal relacionado com a própria infecção pelo HIV, bem como para a presença de coinfeções, hipertensão arterial, diabetes ou à exposição a fármacos nefrotóxicos (Madeddu e cols, 2006).

Estudos indicam que a TARV pode contribuir diretamente para a disfunção renal induzindo a necrose tubular, nefrite intersticial aguda, nefropatia cristalina e distúrbios tubulares renais ou indiretamente através de interações medicamentosas (Kalyesubula e cols, 2011).

Existem ainda outros fatores de risco que podem contribuir para a DRC em pacientes com HIV em tratamento com ARVs, entre eles, raça negra, idade avançada, doença pré-existente, carga viral baixa, proteinúria e coinfeção por hepatite ou doença hepática (Kalim e cols, 2008, Neto e cols, 2006). Em um estudo usando uma análise multivariada, os preditores significativos de declínio da TFG foram diagnósticos de hipertensão, hiperlipidemia, proteinúria, uso de TDF ou d4T e carga viral mais baixa (Overton e cols, 2009).

O impacto da DRC sobre a mortalidade em indivíduos infectados pelo HIV aumenta proporcionalmente ao declínio da função renal, de tal forma que pessoas infectadas pelo HIV com TFG estimadas inferiores a 15 ml/min/1,73 m² têm quase seis vezes mais chances de morrer em comparação com aqueles com TFG estimadas acima de 60 ml/min/1,73 m² (Overton e cols, 2009)

Os efeitos renais mais comuns associados a cada medicamento incluem obstrução induzida por cristais e nefrolitíase em associação à utilização

dos inibidores da protease ATV e IDV e danos no túbulo renal proximal, relacionados ao inibidor da transcriptase análogo de nucleotídeo TDF (Izzedine e cols, 2009; Rho e Perazella, 2007). Esses efeitos serão descritos em maiores detalhes nos itens a seguir e estão resumidos na Tabela 2.

1.3.2. Efeitos Renais do Tenofovir

O tenofovir disoproxil fumarato é um pró-fármaco que é convertido no intestino a TDF. O TDF entra na corrente sanguínea e tem uma meia vida de eliminação em indivíduos com função renal normal em 30h. Biodisponível por via oral, é um inibidor da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo (Jackson e cols, 2013). O TDF é amplamente utilizado como componente de esquemas antirretrovirais para os pacientes HIV virgens de tratamento, baseado na eficácia e tolerabilidade dos ensaios clínicos. Diretrizes para o tratamento do HIV nos EUA consideram o TDF como parte de todos os regimes preferenciais da TARV em adultos e adolescentes (Kalyesubula e cols, 2011).

O TDF é eliminado inalterado na urina por uma combinação de filtração glomerular e secreção tubular proximal. O fármaco é 20-30% ativamente transportado para células do túbulo proximal renal por transportadores de ânions orgânicos (Fernandez-Fernandez e cols, 2011). Os fármacos ARVs mais comumente associados com o TDF são o RTV ou LPV/r, ATV, didanosine (ddI) e amprenavir (AMP) e estes também estão sujeitos a múltiplas interações medicamentosas (Tabela 2).

Um estudo realizado por Brenan e cols, (2011) demonstrou numa coorte de 890 pacientes em tratamento com TDF que, depois de cinco anos, 64,4%

tinham função normal (TFG > 90 ml/min/1,73m²), 30,4% apresentavam disfunção renal leve (TFG entre 60-89 ml/min/1,73m²), 5,2% disfunção renal moderada (TFG < 60 ml/min/1,73m²) e 2,4%, disfunção renal grave. Para o uso do TDF, a triagem para a disfunção renal e ajuste de dose antes do início são necessários para avaliar a doença renal pré-existente (Brennan e cols, 2011). O TDF, além de estar associado à lesão renal aguda (IRA), também está associado à síndrome de Fanconi, que é caracterizada por proteinúria, glicosúria normoglicêmicas, acidose tubular renal hipocalêmica, fosfatúria e perda mineral óssea (Earle e cols, 2004; Labarga e cols, 2009). A observação pode ser relacionada com um aumento de 30% da concentração do TDF no plasma quando administrado com o RTN (Kiser e cols, 2008). Além disso, indivíduos com fosfatúria induzida pelo TDF podem apresentar hipofosfatemia, que, sem intervenção, pode levar a uma doença óssea mineral grave e fatura patológica (Perrot e cols, 2009). Os indivíduos afetados com a síndrome de Fanconi relacionada com TDF podem ou não ter comprometimento da função renal. O TDF pode também causar necrose tubular aguda e mais raramente diabetes insípido (Coca e Perazella, 2002; Karras e cols, 2003; Rollot e cols, 2003). O TDF é o ARV com maior associação ao desenvolvimento da IRA em pacientes vivendo com HIV (Gallant e cols. 2005) e seu uso na prática clínica tem sido associado à insuficiência renal em menos de 12 meses (Padilla e cols, 2005).

A exposição ao TDF foi independentemente associada com um risco aumentado para três tipos de eventos de doença renal que não parecem ser reversíveis, porque o sutil declínio da função renal afeta morbidade e mortalidade a longo prazo (Scherzer e cols, 2012).

Vários estudos têm também associado à utilização do TDF, tempo dependente, à elevação da concentração da creatinina no soro e diminuição da TFG (Gallant, Parishe cols. 2005, Muller and Fromm 2011). Em outro estudo de coorte grande, a redução da TFG foi observada quando TDF foi coadministrado com RTV e comparado com ITRNNs (Fux, Simcocke cols. 2007, Goicoechea, Liue cols. 2008). O papel dos efeitos metabólicos de exposição TARV a longo prazo e a nefrotoxicidade é agora uma preocupação crescente (Estrella e Fine, 2010).

1.3.3. Efeitos Renais dos Inibidores da Protease

Estudos demonstraram que a incidência de cálculos renais foi substancialmente mais elevada entre os pacientes usuários de ATV/r, em comparação com os pacientes que faziam uso de outros IPs. A continuação do ATV/r após o diagnóstico de cálculos renais foi associada a uma alta taxa de recorrência. A alternância de ATV/r com outros ARVs é justificada em pacientes que desenvolvem cálculos renais (Hamada, Nishijimae cols. 2012, Rockwood, Mandaliae cols. 2011). Um estudo de comparação entre TDF/FTC/EFV *versus* ATV/r ou LPV/r por 12 meses demonstrou uma diminuição da TFG e uma incidência significativamente maior de tubulopatia proximal nos que receberam TDF/FTC/EFV (Calza e cols, 2013; Tabela 2)

Tabela 2: Antirretrovirais e efeitos adversos renais.

Antirretroviral	Efeitos Renais	Referência
ATV, IDV	Nefropatia obstrutiva e nefrite intersticial. Obstrução por cristais e nefrolitíase.	Brewster e Perazella, 2004; Izzedine e cols, 2009; Rho e Perazella, 2007
TDF	Danos nos túbulos proximais renais, Síndrome de Fanconi (hipofosfatemia), necrose tubular aguda, diabetes <i>insipidus</i> , insuficiência renal aguda e crônica, perda mineral óssea, proteinúria e nefrotoxicidade.	Brennan e cols, 2011; Coca e Perazella 2002; Fernandez-Fernandez e cols; 2011, Gallant e cols, 2005; Izzedine e cols, 2009; Karras e cols, 2003; Labarga e cols, 2009; Monteagudo-Chu e cols, 2012; Perrot e cols, 2009; Rho and Perazella 2007; Rifkin e Perazella 200; Rollot e cols, 2003; Scherzer e cols, 2012.
TDF+RTV ou TDF+LPV+RTV ou TDF+ATV ou TDF+ddl ou TDF+AMP ou EFZ+ATV/LPv	Disfunção tubular proximal, lesão renal aguda e nefrotoxicidade.	Calza e col, 2013; Campbell e cols, 2009; Crane e cols, 2007; Kiser e cols, 2008; Ryom e cols, 2013; Schmid e cols, 2007; Zimmermann e cols. 2006
IDV	Nefrolitíase, nefropatia obstrutiva e nefrite intersticial.	Estrella e cols, 2010; Izzedine e cols, 2009; Jao e Wyatt, 2010; Rho e Perazella, 2007
RTV+ATV	Cálculos renais, diminuição da creatinina, diminuição da TFG, cristalúria, nefrolitíase e nefrite intersticial.	Brewster e Perazella, 2004; Chan-Tack e cols. 2007; Hamada e cols, 2012; Rockwood e cols, 2011; Schmid e cols, 2007
ATV/RTV+TDF/FTC	Síndrome de Fanconi e doença tubular renal.	Gallant e cols, 2013, Rockstroh e cols, 2013
EFZ+INN+TDF	Aumento da creatinina, insuficiência renal aguda e danos nos túbulos renais.	DeJesus e cols. 2012; Rockstroh e cols. 2013; Zolopa e cols, 2013
DRV	Diminuição da taxa de filtração glomerular.	Orkin e cols, 2013

Atazanavir, ATV; indinavir, IDV; tenofovir, TDF; ritonavir, RTV; lopinavir, LPV; didanosina, ddl; amprenavir AMP; efavirenz, EFZ; emtricitabina, INN; zidovudina e duranovir, DRV.

Em outra investigação comparando LPV/r *versus* indivíduos que não usavam IPs, verificou-se um aumento de 17,5% de alteração renal para os que utilizavam LPV/r (Kiser e cols, 2008). Existe também uma diminuição da depuração da creatinina e diminuição da TFG, quando o RTV for coadministrado com o ATV (Chan-Tack e cols. 2007). Vários estudos clínicos relataram associação do ATV/r com cristalúria, nefrolitíase, nefrite intersticial (Brewster e

Perazella, 2004; Chan-Tack e cols, 2007, Schmid e cols, 2007). Outros ainda têm associado à tubulopatia somente à coadministração do RTV (Woodward e cols, 2009; Zimmermann e cols, 2006). Esses efeitos são devidos ao efeito inibitório do RTV na proteína MATE1, responsável pela secreção da creatinina segundo Tanihara e cols (2007), demonstrada na fig. 4.

O indinavir (IDV) também tem sido implicado em causar o declínio da função renal, tendo sido associado à doença renal aguda, devido à nefropatia cristalina e nefrite intersticial. O reconhecimento desses efeitos adversos renais serviu para a modificação da dose prescrita anteriormente de IDV 800 mg duas vezes por dia, para 600mg duas vezes o dia. No entanto, numa coorte contemporânea, a exposição cumulativa ao IDV foi associada ao aumento de 11% em incidência da doença renal crônica por ano de exposição (Estrella, Finee cols. 2010) Em relação ao inibidor de protease darunavir (DRV), diminuição de TFG foi observada, semelhantemente à descrita para TDF e RTV (Orkin e cols. 2013 ; Tabela2).

1.4. Farmacogenômica

Inúmeras evidências têm demonstrado que a eficácia de determinados fármacos ou a susceptibilidade a seus efeitos adversos varia de indivíduo para indivíduo devido a sua herança genética, isto é, da variação nos genes que codificam as proteínas alvos ou enzimas metabolizadoras dos mesmos. Similar à população geral de não infectados com o HIV, as disparidades raciais na rapidez da progressão para disfunção renal existem entre infectado afro-americanos e caucasianos (Lucas e cols, 2008). Pessoas infectadas pelo HIV de

ascendência africana, especialmente aquelas que têm uma história familiar de disfunção renal, têm sido reconhecidos como tendo maior risco para a doença renal relacionada ao HIV (Freedman e cols, 1999). Estas observações implicam no papel da susceptibilidade genética nas lesões renais relacionadas à TARV. Esta hipótese tem sido apoiada por recentes avanços na área da farmacogenética.

A farmacogenética consiste no estudo das variações interindividuais da sequência de DNA relacionadas com a resposta a fármacos, eficácia e segurança dos mesmos (Hughes, 1999). A farmacogenômica é um termo mais amplo, cunhado com o objetivo de incorporar os avanços obtidos a partir da conclusão do Projeto Genoma Humano na farmacogenética (Azevêdo, 2004, Pirazzoli e Recchia, 2004). Na prática, ambos podem ser usados intercambiadamente.

Estima-se que somente um terço dos indivíduos obtém benefícios terapêuticos a partir de medicamentos prescritos, enquanto em dois terços, o medicamento não atua como esperado ou é pouco tolerado (Norton, 2001). As variações genéticas, tanto no alvo molecular, quanto nos genes envolvidos na doença, como também nas enzimas que metabolizam o fármaco, podem ser determinantes para sua eficácia e/ou a toxicidade (Ginsburg, 2001).

O principal tipo de variação encontrada no genoma humano são os polimorfismos de nucleotídeo único ou polimorfismos de nucleotídeo simples, em inglês *single nucleotide polymorphisms* (SNPs). Um SNP é uma variação na sequência do DNA que afeta somente uma base [adenina (A), timina (T), citosina (C) ou guanina (G)] na sequência do genoma. No entanto, alguns autores consideram a troca de poucos nucleotídeos, assim como pequenas inserções ou

deleções, como SNPs (Muse, 2004). Estas variações devem ocorrer em no mínimo 1% de uma determinada população para serem consideradas SNPs. Se, por outro lado, a frequência de uma variação for inferior a 1%, a mesma será considerada simplesmente uma mutação. Os SNPs constituem 90% de todas as variações genômicas humanas e aparecem, em média, uma vez a cada 800 bases, ao longo do genoma humano.

Quando o polimorfismo ocorre em uma região codificante do gene, pode afetar a sequência de aminoácidos da proteína e alterar a função da mesma. Assim, fica claro que uma variação na sequência das bases nitrogenadas pode afetar tanto a estrutura da proteína como suas propriedades físico-químicas ou, em alguns casos, alterar a síntese da proteína envolvida no metabolismo do fármaco ou especificamente o próprio alvo do fármaco, resultando em variação interindividual na resposta ao tratamento (Trotta e cols, 2004). Dois terços dos SNPs correspondem a substituições de uma citosina (C) por uma timina (T). Além de poder acarretar mudanças morfológicas, essas variações na sequência do DNA podem influenciar a resposta dos organismos a doenças, bactérias, vírus, produtos químicos e fármacos (Yagil e Yagil, 2002)

Em 2008, viu-se o primeiro estudo de associação do genoma inteiro (GWAS, de *genome-wide association study*) para determinantes do controle do hospedeiro do HIV, bem como uma série de estudos de genes candidatos orientada por hipóteses que definiram determinantes da farmacocinética e toxicidade dos antirretrovirais. A importância da investigação de polimorfismos deve-se ao fato de que, uma vez identificado e caracterizado em termos de

expressão, funcionalidade e frequência, torna-se possível uma associação do polimorfismo com a doença e sua progressão ou o efeito de um fármaco (Norton, 2001)

A maioria dos fármacos age a partir da interação com proteínas carreadoras, transportadoras ou enzimas de metabolização. Essas proteínas determinam a absorção, distribuição, excreção, a chegada ao sítio de ação e a resposta farmacológica propriamente dita (Mancinelli e cols, 2000).

O papel central do rim na eliminação de xenobióticos potencialmente tóxicos do sangue para a urina é bem documentado. Os primeiros estudos começaram com observações em animais em 1977 e 1981 com o transporte do cátion orgânico tetraetilamônio (TEA) (Bessegir e cols, 1981; Rennick e cols, 1977) seguidos com estudos em tecidos por muitos anos, como em 1985, no estudo para entender melhor as características do transporte peritubular de cátions orgânicos (OCS), a captação da dimetilpiridínio polivalente e sobre o transporte trans epitelial de p-aminohipurato (HAP) (Bessegir e cols, 1981, Mancinelli e cols, 2000). Estudos celulares também foram importantes, como o transporte transcelular de cátions orgânicos através da linha de monocamadas de células epiteliais de rim LLC-PK e transporte de paraquat (PQ), um cátion herbicida, investigado em célula do tubo proximal renal (LLC-PK1) (Chan e cols, 1997, Saito e cols, 1992). Só recentemente é que as identidades moleculares das proteínas de transporte renal foram elucidadas (Burckhardt e Wolff, 2000; Wright e Dantzer, 2004).

1.4.1. Transportadores Renais e Disfunção Renal

Vários transportadores nas membranas basolateral e apical das células renais estão sujeitos aos efeitos inibitórios dos ARVs. Eles podem diminuir a absorção de fármacos e outros componentes do fluxo sanguíneo, dando origem a elevadas concentrações plasmáticas, ou podem causar uma redução da excreção de fármacos e outros compostos para o espaço urinário, levando ao aumento das concentrações intratubulares, resultando em toxicidade tubular (Kohler e cols, 2011, Yombi e cols, 2014).

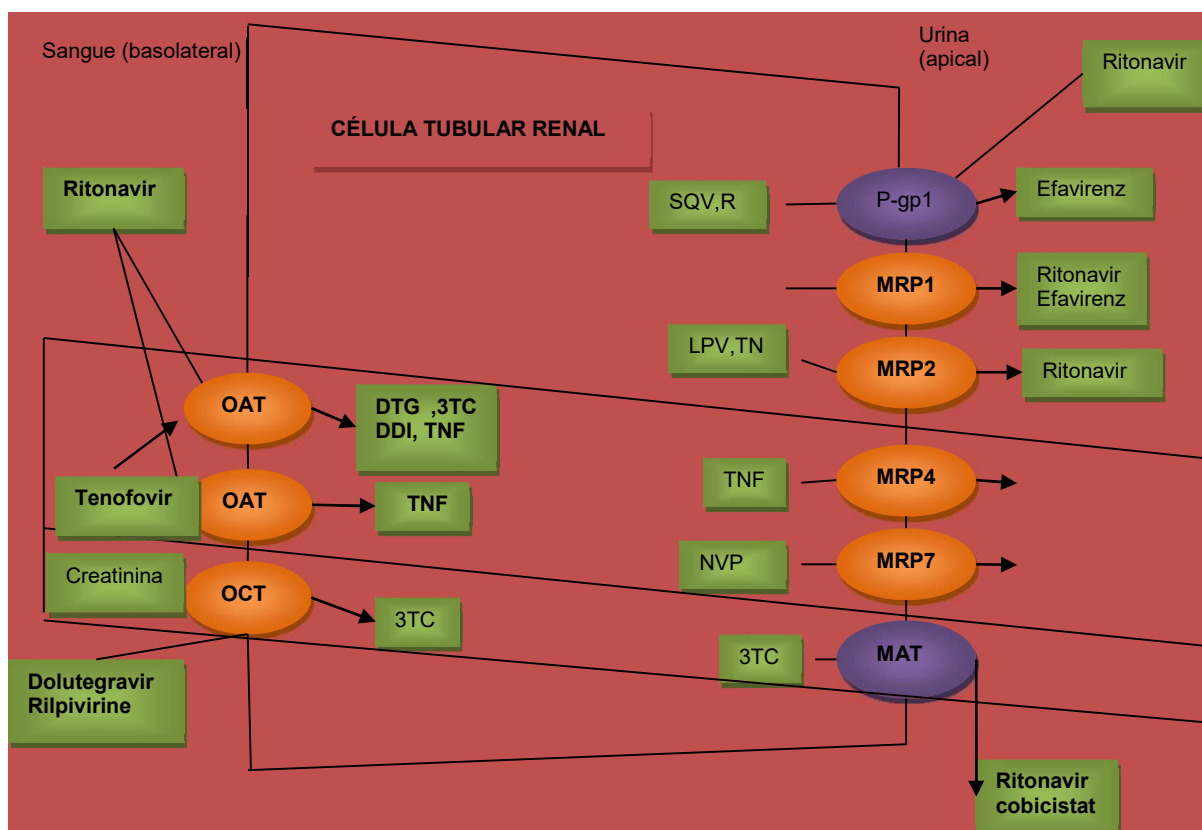


Figura 4. Efeito dos antirretrovirais nos transportadores tubulares renais. Lamivudina, 3TC; didanosina, ddi; dolutegravir, DTG; lopinavir, LPV; proteína de extrusão de múltiplos ânions, MATE. Adaptada de Yombi e cols, 2014.

Sabe-se que, na membrana basolateral do túbulo proximal renal, a absorção ocorre nas células tubulares proximais e o fármaco é capturado pelos

transportadores de ânions orgânicos hOAT1 e hOAT3 (Motohashi, Sakuraie cols. 2002) e excretado pelos transportadores hOAT4 expressos na membrana luminal (Fig. 4). Esses transportadores orgânicos fazem parte da família hOATs (de *human organic anion transporters*) e desempenham um importante papel na excreção renal de várias drogas. Até o momento foram identificados cinco transportadores de ânions orgânicos no fígado e rim humanos (Sun e cols, 2001; Figura 4)

As proteínas transportadoras ABC (*ATP-binding cassette*) estão entre as mais estudadas em relação à biodisponibilidade e efeitos de fármacos. Transportadores ABC são proteínas de membrana que utilizam a energia do trifosfato de adenosina (ATP) de ligação e hidrólise para realizar certos processos biológicos, incluindo a translocação de vários substratos através das membranas e processos não relacionados com o transporte, como tradução do RNA e reparo do DNA. Elas transportam uma grande variedade de substratos através de membranas extra e intracelulares, incluindo produtos metabólicos, lipídios, esteróis e fármacos. As proteínas são classificadas como transportadores ABC baseadas na sequência e organização de seu domínio de ligação. Transportadores ABC estão envolvidos na resistência tumoral, fibrose cística e uma variedade de outras doenças hereditárias humanas, e ao desenvolvimento de resistência a múltiplas drogas (Oldham e cols, 2008). Um exemplo de membro importante desta família é a glicoproteína - P, codificada pelo gene *ABCB1*, também conhecida como MDR1, de *multidrug resistance*.

As proteínas MDR são expressas no lado apical das células do túbulo proximal e agem no transporte ao lúmen durante a secreção tubular ativa de vários substratos de antirretrovirais (Griffin e cols, 2011, Ray e cols, 2006). Essas

proteínas são membros de uma das maiores e mais antigas famílias, com representantes em todos os filos procariontes e eucariontes (Jones e George, 2004).

1.4.2. Ação dos Antirretrovirais Sobre os Transportadores Renais

Conforme já citado, os ARVs têm sido associados a uma grande quantidade de doenças relacionadas à disfunção renal. No entanto, os mecanismos que levam a essa toxicidade renal ainda são pouco conhecidos. Sabe-se que alguns ARVs podem inibir os transportadores de drogas nas membranas apicais e basolaterais das células renais, reduzindo assim a taxa de filtração glomerular (Cihlar e cols, 2007). Fármacos tais como RTV, COBI, DTG e rilpivirina (RPV) inibem os transportadores de drogas, resultando numa redução da TFG e uma potencial interação droga a droga desfavorável (Fernandez-Fernandez e cols, 2011; Hagenbuch e Meier, 2004; Lepist e cols, 2011; Muller e Fromm, 2011).

O RTV foi o primeiro IP desenvolvido como droga antiviral para o HIV, no entanto tem seu uso limitado devido aos efeitos adversos. O uso do RTV diminui a permeabilidade da glicoproteína P (ABCB1), um transportador de membrana celular renal, que transporta vários fármacos para fora das células, incluindo os IPs. Esse efeito leva a um aumento da concentração plasmática da droga na célula renal, levando a uma toxicidade (Hsu e cols, 1998). O RTV inibe vários outros transportadores de membrana em células tubulares renais. São eles: OAT1, OAT3, MRP2, MRP4 e MATE1 (Gupta e cols, 2012; Yombi e cols, 2014). Dados *in vitro* sugerem que o RTV tem um mínimo efeito na MRP4,

transportadora apical do TDF (Cihlar e cols, 2007). Entretanto, o aumento da exposição tubular ao TDF pode resultar num efeito num aumento do efeito inibitório do RTV (Lee e cols, 1998).

Sabe-se que a atividade de secreção renal do TDF na membrana basolateral do túbulo proximal ocorre através de absorção (influxo) pelos transportadores orgânicos OAT1 e OAT3, codificados pelos genes da família SLC, *SLC22A6* e *SLC22A8* e o seu efluxo ocorre na membrana apical, mediado pelas proteínas de resistência a múltiplas drogas ABCC4 e C10 (MRP4 e MRP7) (2009; fig.4).

O TDF é secretado nas células tubulares proximais e 20 a 30 % do TDF são excretados de forma inalterada na urina através de secreção ativa por células tubulares proximais. OAT1 é o principal transportador do TDF na célula renal tubular proximal, embora OAT3 também possa colaborar. Uma vez dentro deste tipo de célula, rico em mitocôndrias, o TDF deve ser expulso para o lúmen tubular pelos transportadores MRP2 e MRP4. O bloqueio da captação de TDF pelo OAT1 pode proteger as células tubulares, mantendo o nível intracelular de TDF baixo. A diminuição da taxa de filtração glomerular vai aumentar os níveis de TDF no plasma e aumentar a sua absorção pela célula tubular proximal através de OAT1. A interferência farmacológica na extrusão do TDF pelos transportadores MRP2 e MRP4 pode aumentar a sua nefrotoxicidade (Kalyesubula e Perazella, 2011).

As células tubulares proximais são excepcionalmente suscetíveis à toxicidade do TDF, porque ele se complementa com os transportadores e isso faz com que aumente a concentração intracelular da droga. Além disso, essas

células são ricas em mitocôndrias, e o TDF causa a depleção e várias alterações estruturais no tamanho e forma, como também promove a aglutinação, perda e desorientação das cristas das mitocôndrias (Saumoy e cols, 2004).

1.4.3. Genes Associados aos Efeitos Renais da TARV

1.4.3.1. GENE *ABCB1*

Localizado no cromossomo 7q21.12, o gene *ABCB1* codifica um membro da família de proteínas transportadoras ABC (*ATP-binding cassette*), o membro B da sub-família 1, também conhecida como glicoproteína – P – 1, (P-gp) ou como proteína de resistência a múltiplas drogas (MDR1, de *multidrug resistance*). A MDR1 é uma importante proteína da membrana celular que bombeia muitas substâncias estranhas para fora das células. Mais formalmente, é uma bomba de efluxo ATP-dependente com ampla especificidade de substratos.

Tabela 3. Estudos de associação de polimorfismos genéticos nos transportadores renais e disfunção renal em pacientes infectados pelo HIV.

GENE	SNP	RS	n	Alelo/efeito	Desfecho	Referência
<i>ABCB1</i>	2677T→A/G (A:Ser893Thr, G:Ser893Ala)	rs2032582	190	n.a.	Disfunção tubular renal (KTD) em população asiática HIV + em uso de TDF	Nishijima e cols, (2012)
<i>ABCB1</i>	1236 C>T 3435 C>T	rs1128503 rs1045642	115	n.a. n.a.	KTD em população espanhola HIV + em uso de TDF	Saumoy e cols, (2004)
<i>ABCC2</i>	-24 C>T 1249 G>A 3563 T>A 3972 C>T 4544 G>A	rs717620 rs2273697 rs8187694 rs3740066 rs8187710	115	CC↑ KTD n.a. n.a. n.a. n.a.	KTD em população espanhola HIV + em uso de TDF	Rodriguez-Novoa e cols, (2009)
<i>ABCC2</i>	-24 C>T 1249 G>A (Val417Ile) 2366C→T (Ser789Phe) 2934G→A (Ser978Ser)	rs717620 rs2273697 rs56220353 rs3740070	190	CC ↑ AA ↑ KTD n.a. n.a.	KTD em população asiática HIV + em uso de TDF	Nishijima e cols, (2012)
<i>ABCC2</i>	-24C>T 1249 G>A 3563 T>A 3972 C>T	rs717620 rs2273697 rs8187694 rs3740066	30	n.a. A ↑ pRT n.a. n.a.	Tubulopatia proximal renal (pRT) em HIV + da França. Haplótipo CATC mais frequente em pRT.	Izzedine e cols, (2006)
<i>ABCC2</i>	-24C>T 1249G>A (Val417Ile)	rs717620 rs2273697	30	n.a. n.a.	HIV + em uso de TDF dos EUA. Concentração intracelular do TDF	Mallants e cols, (2005)
<i>ABCC4</i>	559 G→T (Gly187Trp) 2269G→A (Glu757Lys) 3348A→G (Lys1116Lys) 4135T→G (3'UTR) 4976T→C(3' UTR)	rs11568658 rs3765534 rs1751034 rs3742106 rs1059751	190	n.a. n.a. n.a. n.a. n.a.	KTD em população asiática HIV + em uso de TDF	Taniguchi e cols, (1996)
<i>ABCC4</i>	669 C>T 3463 A>G	rs899494 rs1751034	115	n.a. n.a.	KTD em população espanhola HIV + em uso de TDF	Saumoy e cols, (2004)

	4134 T>G	rs3742106		n.a.		
ABCC4	3463 A>G 4131T>G	rs1751034 rs3742106	30	3463 G↑ [TDF]	HIV + em uso de TDF dos EUA. Alelo G aumenta a concentração intracelular do TDF	Kiser e cols, (2008)
ABCC10	526G→A (intron) 2759T→C (Ile920Thr)	rs9349256 rs2125739	190	n.a. n.a.	KTD em população asiática HIV + em uso de TDF	Taniguchi e cols, (1996)
ABCC10	intron 4 Ile920Thr exon 12 e outros 12 SNPs	rs9349256 rs2125739	115	G C	Haplótipo GGC associado à KTD em população espanhola HIV + em uso de TDF	Pushpakom e cols, (2011)
ABCC10	exon 12 e outros 13 SNPs	rs2125739	163	CC ↓ NVP no plasma	Branco e negro infectados pelo HIV recebendo NVP da Alemanha. Resultado significativo só em brancos.	Liptrott e cols, (2012)
SLC22A6	453 G>A		115	n.a.	KTD em população espanhola HIV + em uso de TDF	Saumoy e cols, (2004)
SLC22A6	728G>A (Arg50His) 453G>A (5' UTR)	rs11568626 rs4149170	30	n.a. n.a.	HIV + em uso de TDF dos EUA. Concentração intracelular do TNF	Mallants e cols, (2005)
SLC22A6	180C→T (Asn60Asn)	rs11568630	190	n.a.	KTD em população asiática HIV + em uso de TDF	Taniguchi e cols, (1996)
SLC22A11	T>A	rs11231809	115	n.a.	KTD em população espanhola HIV + em uso de TDF	Saumoy e cols, (2004)

rs, número de acesso no banco de dados de SNPs (dbSNP, www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP/), n.a., não associado; TDF, tenofovir; NVP, nevirapina; KTD, disfunção tubular renal.

A P-gp é encontrada em animais, fungos e bactérias e, provavelmente, evoluiu como um mecanismo de defesa contra substâncias nocivas. A P-gp é amplamente distribuída e expressa no epitélio intestinal, onde bombeia xenobióticos, tais como toxinas ou drogas, de volta para o lúmen intestinal, em células do fígado, onde os bombeia para as vias biliares, nas células do túbulo proximal do rim, onde os bombeia para os condutos de condução de urina, e nos capilares das células endoteliais constituindo a barreira hemato-encefálica e barreira hemato-testicular, onde os bombeia de volta para

os capilares. Algumas células tumorais também expressam grandes quantidades de P-gp, o que torna esses tipos de câncer resistentes a múltiplas drogas. Estudos realizados tentaram provar que a P-gp transporta o TDF para fora das células renais e que polimorfismos na mesma podem alterar a sua atividade, causando toxicidade celular renal (Rodriguez-Novoa e cols, 2009) da mesma forma que acontece com a digoxina nos enterócitos (Hoffmeyer e cols, 2000, Horinouchi e cols, 2002; Tabela 3).

1.4.3.2. GENE ABCC2

Igualmente membro da família de proteínas transportadoras ABC, este gene localiza-se em 10q24.2. Este gene codifica a proteína de transporte MRP2 (membro 2 da subfamília C das ABC) (Taniguchi e cols, 1996). Esta proteína é expressa na parte apical do hepatócito com funções de transporte biliar. Seus substratos incluem drogas anticâncer, como vimblastina.

Esta proteína parece contribuir para a resistência aos medicamentos em células de mamíferos (van Kuijck e cols, 1997). A MRP2 também é expressa na membrana apical do túbulo proximal renal e nas células endoteliais, onde está envolvida na excreção de pequenos ânions orgânicos (Sekine e cols, 2006).

A MRP2 leva o TDF para fora da célula renal na membrana apical. Sabe-se que a expressão desse transportador pode modular a quantidade de TDF e outros antirretrovirais dentro da célula, regulando o dano na célula tubular (Mallants e cols, 2005; Miller, 2001). Segundo um estudo de 2006, o polimorfismo genético na posição 1249 desse gene foi associado ao desenvolvimento da toxicidade renal pelo TDF (Izzedine e cols, 2006). Segundo (Nishijima e cols,

2012) demonstraram uma associação entre SNPs do gene *ABCC2* e a indução da disfunção tubular renal causada pelo TDF (Nishijima e cols, 2012; Tabela 3).

1.4.3.3. GENE *ABCC4*

A MRP4 (membro 4 da subfamília C das ABC) é a proteína codificada pelo gene *ABCC4* (Lee e cols. 1998), localizado em 13q32.1. A MRP4 atua como um regulador intracelular de níveis de nucleotídeos cíclicos e como um mediador de transdução de sinal dependente de AMP cíclico para o núcleo (Sassi e cols; 2008). MRP4/*ABCC4* também transporta as prostaglandinas, por exemplo, PGE2, para fora da célula, onde podem se ligar a receptores (Reid, Wielingae cols. 2003).

O TDF é excretado na célula da membrana apical para o trato urinário pela proteína MRP4 (Imaoka e cols, 2007, Ray e cols, 2006). Apesar de uma boa compreensão da excreção renal do TDF, os mecanismos pelos quais ele causa dano aos rins ainda permanecem obscuros. TDF poderia perturbar a função mitocondrial ou interferir na função de proteínas tubulares renais envolvidas na sua eliminação (Kohler e cols, 2011). Um estudo de associação entre as concentrações intracelulares do TDF e polimorfismos nos genes *SLC22A6*, *ABCC2* e *ABCC4* identificou uma associação com a variante *ABCC4* 3463A>G. Indivíduos portadores do alelo 3463G tinham concentrações de TDF 35% mais elevadas do que os homozigotos para o alelo selvagem (Kiser e cols, 2008).

1.4.3.4. GENES *SLC22A6* e *SLC22A11*

Os transportadores de ânions orgânicos (OATs) desempenham um papel fundamental na excreção renal de compostos iônicos orgânicos, solúveis em água, carregados negativamente incluindo resíduos de produtos endógenos e numerosos medicamentos e seus metabólitos. A expressão dos OATs tem sido detectada em diversos órgãos, tais como rim, fígado, cérebro e placenta. Foram identificados vários transportadores codificados por essa família de genes: OAT1 (*SLC22A6*), OAT2 (*SLC22A7*), OAT3 (*SLC22A8*), OAT4 (*SLC22A11*), OAT5 (*SLC22A19*), OAT6 (*SLC22A20*) e URAT1 (*SLC22A12*) (Burckhardt, 2012). Os genes que codificam o OAT1 (*SLC22A6*) e OAT3 (*SLC22A8*) estão localizados no cromossomo 11q12.3, e os genes que codificam o OAT4 (*SLC22A11*) e URAT1 (*SLC22A12*) estão localizados no cromossoma 11q13.1.

Os OAT1 estão localizados principalmente nas membranas plasmáticas das células epiteliais dos túbulos renais proximais, onde realizam o transporte de fármacos do sangue para as células do túbulo proximal. Os OAT1 são transportadores de drogas antivirais, entre eles os ARVs TDF (Bleasby e cols, 2005) e o AZT (Burckhardt, 2012, Takeda e cols, 2002). Polimorfismos nos genes que codificam os OATs podem contribuir para a disfunção renal, a toxicidade hepática, neurológica e fetal (Zhou e You, 2007). Vários SNPs foram descritos no gene *SLC22A6* (L7Pa, R50Hbc, P104Lc, I226Tc, A256Vc, R293Wc, R454Qd, K525Ic), para os quais são conhecidas algumas de suas consequências funcionais (Bleasby e cols, 2005; Fujita e cols, 2005). Por exemplo, estudos de expressão do OAT1 com a mutação R50H mostraram uma maior afinidade pelo transporte do TDF (Burckhardt, 2012). Sabe-se também que

os níveis de expressão de RNAm dos OAT1 são significativamente mais baixos em pacientes com doença renal.

O OAT4 é um transportador orgânico que pode operar no efluxo e no influxo do transporte de muitas drogas, atuando na membrana basolateral e apical das células tubulares renais. Vários SNPs foram relatados para o gene *SLC22A11*, no entanto suas consequências funcionais ainda são pouco conhecidas (V13Ma, R48Xa, T62Ra, V155Ma, A244Va, E278Ka, V399Ma, T392Ia) (Xu e cols, 2005). Estudos sugerem sua associação com casos de gota (Sakiyama e cols, 2013).

Alguns estudos relacionando polimorfismos nos genes dos transportadores OAT1 e OAT4 com a nefrotoxicidade dos ARVs já foram publicados (Rodriguez-Novoa e cols, 2009). Em 2005, foi realizado o primeiro estudo, que determinou que variantes de *SLC22A6*, 728 G>A, que resulta numa mutação com troca de aminoácido Arg/His (R50H) e a uma variante de troca de nucleotídeo 8347 A>T, que resulta na troca de aminoácido Lis/Iso (K525I) estavam envolvidas em nefrotoxicidade induzida por análogos de nucleotídeos fosfatados, sendo que esses SNPs foram apenas encontrados em amostras de origem africana (Bleasby e cols, 2005). Já em 2006 foi realizado um estudo de análise de polimorfismos nas regiões regulatórias 5' dos genes *SLC22A6* e *SLC22A8*, verificando um polimorfismo de troca de A para G no região -3.655 do gene *SLC22A6* (OAT1), sendo esse reconhecido por exercer função renal e sete outros polimorfismos no gene *SLC22A8* (OAT3) envolvidos no metabolismo de drogas (Bhatnagar e cols, 2006).

2. Referencias Bibliografias

UNAIDS. Report on the Global Aids Epidemic 2013. Disponível em: http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2013/gr2013/UNAIDS_Global_Report_2013_en.pdf. Acessado: 20 de outubro 2014.

Azevêdo ES. Farmacogenômica: aspectos éticos. *Gazeta Médica da Bahia*. 2004;72(2):145-8.

Barbosa FC, Ferreira TCA, Salgado Filho N. Avaliação do Desempenho das Equações de Cockcroft-Gault e do Estudo "Modification of Diet in Renal Disease" em Transplantados Renais. *J Bras Nefrol*. 2008;30(3):205-212).

Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*. 1983 May 20;220(4599):868-71.

Beseghir K, Pearce LB, Rennick B. Renal tubular transport and metabolism of organic cations by the rabbit. *Am J Physiol*. 1981 Sep;241(3):F308-14.

Bhatnagar V, Xu G, Hamilton BA, Truong DM, Eraly SA, Wu W, et al. Analyses of 5' regulatory region polymorphisms in human SLC22A6 (OAT1) and SLC22A8 (OAT3). *J Hum Genet*. 2006 51(6):575-80.

Bleasby K, Hall LA, Perry JL, Mohrenweiser HW, Pritchard JB. Functional consequences of single nucleotide polymorphisms in the human organic anion transporter hOAT1 (SLC22A6). *J Pharmacol Exp Ther*. 2005 314(2):923-31.

Brennan A, Evans D, Maskew M, Naicker S, Ive P, Sanne I, et al. Relationship between renal dysfunction, nephrotoxicity and death among HIV adults on tenofovir. *AIDS*. 2011 Aug 24;25(13):1603-9.

Brewster UC, Perazella MA. Acute interstitial nephritis associated with atazanavir, a new protease inhibitor. *Am J Kidney Dis*. 2004 Nov;44(5):e81-4.

Burckhardt G. Drug transport by Organic Anion Transporters (OATs). *Pharmacol Ther*. 2012 Oct;136(1):106-30.

Burckhardt G, Wolff NA. Structure of renal organic anion and cation transporters. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2000 Jun;278(6):F853-66.

Calza L. Renal toxicity associated with antiretroviral therapy. *HIV Clin Trials*. 2012 Jul-Aug;13(4):189-211.

Calza L, Trapani F, Salvadori C, Magistrelli E, Manfredi R, Colangeli V, et al. Incidence of renal toxicity in HIV-infected, antiretroviral-naïve patients starting tenofovir/emtricitabine associated with efavirenz, atazanavir/ritonavir, or lopinavir/ritonavir. *Scand J Infect Dis*. 2013 Feb;45(2):147-54.

Campbell LJ, Ibrahim F, Fisher M, Holt SG, Hendry BM, Post FA. Spectrum of chronic kidney disease in HIV-infected patients. *HIV Med.* 2009 Jul;10(6):329-36.

Cao Y, Qin L, Zhang L, Safrit J, Ho DD. Virologic and immunologic characterization of long-term survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med.* 1995 Jan 26;332(4):201-8.

Carter JL, Stevens PE, Irving JE, Lamb EJ. Estimating glomerular filtration rate: comparison of the CKD-EPI and MDRD equations in a large UK cohort with particular emphasis on the effect of age. *QJM.* 2011 Oct;104(10):839-47.

Chan-Tack KM, Truffa MM, Struble KA, Birnkrant DB. Atazanavir-associated nephrolithiasis: cases from the US Food and Drug Administration's Adverse Event Reporting System. *AIDS.* 2007 May 31;21(9):1215-8.

Chan BS, Lazzaro VA, Seale JP, Duggin GG. Transport of paraquat by a renal epithelial cell line, MDCK. *Ren Fail.* 1997 Nov;19(6):745-51.

Cihlar T, Ray AS, Laflamme G, Vela JE, Tong L, Fuller MD, et al. Molecular assessment of the potential for renal drug interactions between tenofovir and HIV protease inhibitors. *Antivir Ther.* 2007;12(2):267-72.

Coca S, Perazella MA. Rapid communication: acute renal failure associated with tenofovir: evidence of drug-induced nephrotoxicity. *Am J Med Sci.* 2002 Dec;324(6):342-4.

Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron.* 1976;16(1):31-41.

Crane HM, Kestenbaum B, Harrington RD, Kitahata MM. Amprenavir and didanosine are associated with declining kidney function among patients receiving tenofovir. *AIDS.* 2007 Jul 11;21(11):1431-9.

DeJesus E, Rockstroh JK, Henry K, Molina JM, Gathe J, Ramanathan S, et al. Co-formulated elvitegravir, cobicistat, emtricitabine, and tenofovir disoproxil fumarate versus ritonavir-boosted atazanavir plus co-formulated emtricitabine and tenofovir disoproxil fumarate for initial treatment of HIV-1 infection: a randomised, double-blind, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet.* 2012 Jun 30;379(9835):2429-38.

Departamento de DST, Aids e Hepatites virais (DST/HIV/AIDS). Portal sobre aids, doenças sexualmente transmissíveis e hepatites virais. Disponível em: www.aids.gov.br/2012/. Acessado em: 20 outubro de 2014.

Earle KE, Seneviratne T, Shaker J, Shoback D. Fanconi's syndrome in HIV+ adults: report of three cases and literature review. *J Bone Miner Res.* 2004 May;19(5):714-21.

Elion R, Gathe J, Rashbaum B. The Single-Tablet Regimen of Elvitegravir/Cobicistat/Emtricitabine/Tenofovir Disoproxil Fumarate

(EVG/COBI/FTC/TDF; Quad) Maintains a High Rate of Virologic Suppression, and Cobicistat (COBI) is an Effective Pharmacoenhancer Through 48 Weeks. 50th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC 2010). In press 2010

Estrella MM, Fine DM. Screening for chronic kidney disease in HIV-infected patients. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2010 Jan;17(1):26-35.

Estrella MM, Fine DM, Atta MG. Recent developments in HIV-related kidney disease. *HIV Ther*. 2010 Sep;4(5):589-603.

Fauci AS. The AIDS epidemic--considerations for the 21st century. *N Engl J Med*. 1999 Sep 30;341(14):1046-50.

Fernandez-Fernandez B, Montoya-Ferrer A, Sanz AB, Sanchez-Nino MD, Izquierdo MC, Poveda J, et al. Tenofovir nephrotoxicity. *AIDS Res Treat*. 2011;2011:354908.

Florkowski CM, Chew-Harris JS. Methods of Estimating GFR - Different Equations Including CKD-EPI. *Clin Biochem Rev*. 2011 May;32(2):75-9.

Focaccia R, Veronesi R. *Tratado de Infectologia*. 4ª Edição - 2 Vols. São Paulo. Ateneu; 2007.

Freedman BI, Soucie JM, Stone SM, Pegram S. Familial clustering of end-stage renal disease in blacks with HIV-associated nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 1999 Aug;34(2):254-8.

Fujita T, Brown C, Carlson EJ, Taylor T, de la Cruz M, Johns SJ, et al. Functional analysis of polymorphisms in the organic anion transporter, SLC22A6 (OAT1). *Pharmacogenet Genomics*. 2005 Apr;15(4):201-9.

Fux CA, Simcock M, Wolbers M, Bucher HC, Hirschel B, Opravil M, et al. Tenofovir use is associated with a reduction in calculated glomerular filtration rates in the Swiss HIV Cohort Study. *Antivir Ther*. 2007;12(8):1165-73.

Gallant JE, Koenig E, Andrade-Villanueva J, Chetchotisakd P, DeJesus E, Antunes F, et al. Cobicistat versus ritonavir as a pharmacoenhancer of atazanavir plus emtricitabine/tenofovir disoproxil fumarate in treatment-naive HIV type 1-infected patients: week 48 results. *J Infect Dis*. 2013 Jul;208(1):32-9.

Gallant JE, Parish MA, Keruly JC, Moore RD. Changes in renal function associated with tenofovir disoproxil fumarate treatment, compared with nucleoside reverse-transcriptase inhibitor treatment. *Clin Infect Dis*. 2005 Apr 15;40(8):1194-8.

Ginsburg GSM, J. J. Personalized medicine: revolutionizing drug discovery and patient care. *T in Biotechnology*. 2001;19 (12): 491-6.

Goicoechea M, Liu S, Best B, Sun S, Jain S, Kemper C, et al. Greater tenofovir-associated renal function decline with protease inhibitor-based versus nonnucleoside reverse-transcriptase inhibitor-based therapy. *J Infect Dis*. 2008 Jan 1;197(1):102-8.

Griffin L, Annaert P, Brouwer KL. Influence of drug transport proteins on the pharmacokinetics and drug interactions of HIV protease inhibitors. *J Pharm Sci*. 2011 Sep;100(9):3636-54.

Gupta A, Bugeja A, Kirpalani D. Tenofovir-induced nephrotoxicity: myths and facts. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2012 Jan;23(1):148-9.

Guyton AC, Hall JE. *Tratado de fisiologia Medica* 12 ed.: Elsevier Editorial LTD; 2006.

Hagenbuch B, Meier PJ. Organic anion transporting polypeptides of the OATP/SLC21 family: phylogenetic classification as OATP/SLCO superfamily, new nomenclature and molecular/functional properties. *Pflugers Arch*. 2004 Feb;447(5):653-65.

Hamada Y, Nishijima T, Watanabe K, Komatsu H, Tsukada K, Teruya K, et al. High incidence of renal stones among HIV-infected patients on ritonavir-boosted atazanavir than in those receiving other protease inhibitor-containing antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*. 2012 Nov;55(9):1262-9.

Henry K. Antiretroviral medications as prevention: will the new paradigm reverse the HIV epidemic? *Minn Med*. 2012 Aug;95(8):48-50.

Highleyman L. HIV and hepatitis C coinfection. *BETA*. 2003 Winter;15(4):32-44.

Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmoller J, John A, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000 Mar 28;97(7):3473-8.

Horinouchi M, Sakaeda T, Nakamura T, Morita Y, Tamura T, Aoyama N, et al. Significant genetic linkage of MDR1 polymorphisms at positions 3435 and 2677: functional relevance to pharmacokinetics of digoxin. *Pharm Res*. 2002 Oct;19(10):1581-5.

Hsu A, Granneman GR, Bertz RJ. Ritonavir. Clinical pharmacokinetics and interactions with other anti-HIV agents. *Clin Pharmacokinet*. 1998 Oct;35(4):275-91.

Hughes JE. Genomic technologies in drug discovery and development. *Drug Discov Today*. 1999 Jan;4(1):6.

Ibrahim F, Hamzah L, Jones R, Nitsch D, Sabin C, Post FA. Comparison of CKD-EPI and MDRD to estimate baseline renal function in HIV-positive patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2012 Jun;27(6):2291-7.

Imaoka T, Kusuhara H, Adachi M, Schuetz JD, Takeuchi K, Sugiyama Y. Functional involvement of multidrug resistance-associated protein 4 (MRP4/ABCC4) in the renal elimination of the antiviral drugs adefovir and tenofovir. *Mol Pharmacol*. 2007 Feb;71(2):619-27.

Izzedine H, Damond F, Brocheriou I, Ghosn J, Lassel H, Deray G. HIV-2 infection and HIV-associated nephropathy. *AIDS*. 2006 Apr 4;20(6):949-50.

Izzedine H, Harris M, Perazella MA. The nephrotoxic effects of HAART. *Nat Rev Nephrol*. 2009 Oct;5(10):563-73.

Izzedine H, Hulot JS, Villard E, Goyenville C, Dominguez S, Ghosn J, et al. Association between ABCC2 gene haplotypes and tenofovir-induced proximal tubulopathy. *J Infect Dis*. 2006 Dec 1;194(11):1481-91.

Jackson A, Moyle G, Watson V, Tjia J, Ammara A, Back D, et al. Tenofovir, emtricitabine intracellular and plasma, and efavirenz plasma concentration decay following drug intake cessation: implications for HIV treatment and prevention. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2013 Mar 1;62(3):275-81.

Jao J, Wyatt CM. Antiretroviral medications: adverse effects on the kidney. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2010 Jan;17(1):72-82.

Jones PM, George AM. The ABC transporter structure and mechanism: perspectives on recent research. *Cell Mol Life Sci*. 2004 Mar;61(6):682-99.

Kalim S, Szczech LA, Wyatt CM. Acute kidney injury in HIV-infected patients. *Semin Nephrol*. 2008 Nov;28(6):556-62.

Kalyesubula R, Kagimu M, Opio KC, Kiguba R, Semitala CF, Schlech WF, et al. Hepatotoxicity from first line antiretroviral therapy: an experience from a resource limited setting. *Afr Health Sci*. 2011 Mar;11(1):16-23.

Kalyesubula R, Perazella MA. Nephrotoxicity of HAART. *AIDS Res Treat*. 2011 2011:562790.

Karras A, Lafaurie M, Furco A, Bourgarit A, Droz D, Sereni D, et al. Tenofovir-related nephrotoxicity in human immunodeficiency virus-infected patients: three cases of renal failure, Fanconi syndrome, and nephrogenic diabetes insipidus. *Clin Infect Dis*. 2003 Apr 15;36(8):1070-3.

Katzung BG. *Farmacologia: básica & clínica* 9 ed Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

Kiser JJ, Aquilante CL, Anderson PL, King TM, Carten ML, Fletcher CV. Clinical and genetic determinants of intracellular tenofovir diphosphate concentrations in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008. Mar 1;47(3):298-303.

Kiser JJ, Carten ML, Aquilante CL, Anderson PL, Wolfe P, King TM, et al. The effect of lopinavir/ritonavir on the renal clearance of tenofovir in HIV-infected patients. *Clin Pharmacol Ther.* 2008 Feb;83(2):265-72.

Kohler JJ, Hosseini SH, Green E, Abuin A, Ludaway T, Russ R, et al. Tenofovir renal proximal tubular toxicity is regulated By OAT1 and MRP4 transporters. *L Investigation.* 2011;91:852-8.

Labarga P, Barreiro P, Martin-Carbonero L, Rodriguez-Novoa S, Solera C, Medrano J, et al. Kidney tubular abnormalities in the absence of impaired glomerular function in HIV patients treated with tenofovir. *AIDS.* 2009 Mar 27;23(6):689-96.

Lavra MZM. Obtenção Tecnológica de Antiretroviral Dose-Fixa Combinada à Base de Zidovudina, Lamivudina e Nevirapina. Recife: Universidade Federal de Pernambuco; 2006

Lee CG, Gottesman MM, Cardarelli CO, Ramachandra M, Jeang KT, Ambudkar SV, et al. HIV-1 protease inhibitors are substrates for the MDR1 multidrug transporter. *Biochemistry.* 1998 Mar 17;37(11):3594-601.

Lee K, Belinsky MG, Bell DW, Testa JR, Kruh GD. Isolation of MOAT-B, a widely expressed multidrug resistance-associated protein/canalicular multispecific organic anion transporter-related transporter. *Cancer Res.* 1998 Jul 1;58(13):2741-7.

Lepist EI, Murray BP, Tong L, Roy A, Bannister R, Ray AS. Effect of cobicistat and ritonavir on proximal renal tubular cell uptake and efflux transporters. 51st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC); 17–20; 2011, Chicago.

Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med.* 1999 Mar 16;130(6):461-70.

Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, 3rd, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 2009 May 5;150(9):604-12.

Liptrott NJ, Pushpakom S, Wyen C, Fatkenheuer G, Hoffmann C, Mauss S, et al. Association of ABCC10 polymorphisms with nevirapine plasma concentrations in the German Competence. Network for HIV/AIDS; *Pharmacogenet Genomics.* 2012 Jan;22(1):10-9.

Lopes AC. Clínica Médica. Diagnóstico e tratamento. 1ª ed. São Paulo: Ateneu; 2014.

Lucas GM, Lau B, Atta MG, Fine DM, Keruly J, Moore RD. Chronic kidney disease incidence, and progression to end-stage renal disease, in HIV-infected individuals: a tale of two races. *J Infect Dis.* 2008; Jun 1;197(11):1548-57.

Madeddu G, T. TQ, Carradori S, Ricci H, C. G, Penco G, et al. Renal toxicity in HIV-infected patients receiving HAART including tenofovir. *Le Infezioni in Medicina*. 2006, 125-134.

Mallants R, Van Oosterwyck K, Van Vaeck L, Mols R, De Clercq E, Augustijns P. Multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2) affects hepatobiliary elimination but not the intestinal disposition of tenofovir disoproxil fumarate and its metabolites. *Xenobiotica*. 2005 Oct-Nov;35(10-11):1055-66.

Mancinelli L, Cronin M, Sadee W. Pharmacogenomics: the promise of personalized medicine. *AAPS PharmSci*. 2000;2(1):E4.

Marins JR, Jamal LF, Chen SY, Barros MB, Hudes ES, Barbosa AA, et al. Dramatic improvement in survival among adult Brazilian AIDS patients. *AIDS*. 2003 Jul 25;17(11):1675-82.

Miller DS. Nucleoside phosphonate interactions with multiple organic anion transporters in renal proximal tubule. *J Pharmacol Exp Ther*. 2001 Nov;299(2):567-74.

Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Portal sobre aids, doenças sexualmente transmissível e Hepatites Virais. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/2014/>. Acessado em: 08 de outubro de 2014.

Monteagudo-Chu MO, Chang MH, Fung HB, Brau N. Renal toxicity of long-term therapy with tenofovir in HIV-infected patients. *J Pharm Pract*. 2012 Oct;25(5):552-9.

Motohashi H, Sakurai Y, Saito H, Masuda S, Urakami Y, Goto M, et al. Gene expression levels and immunolocalization of organic ion transporters in the human kidney. *J Am Soc Nephrol*. 2002 Apr;13(4):866-74.

Michaud V, Bar-Magen T, Turgeon J, Flockhart D, Desta Z, Wainberg MA. The dual role of pharmacogenetics in HIV treatment: mutations and polymorphisms regulating antiretroviral drug resistance and disposition. *Pharmacol Rev*. 2012 Jul;64(3):803-33.

Muller F, Fromm MF. Transporter-mediated drug-drug interactions. *Pharmacogenomics*. 2011 Jul;12(7):1017-37.

Mwagomba B, Zachariah R, Massaquoi M, Misindi D, Manzi M, Mandere BC, et al. Mortality reduction associated with HIV/AIDS care and antiretroviral treatment in rural Malawi: evidence from registers, coffin sales and funerals. *PLoS One*. 2010;5(5):e10452.

Neto LFSP, Braga AC, Rocha JA, Vieira NFR, Miranda AE. Fatores de risco associados a alterações renais em pacientes infectados por HIV-1. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2006 44(1)((1)):30-4.

NICE. Chronic Kidney Disease: National Clinical Guideline for Early Identification and Management in Adults in Primary and Secondary Care. London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE) and The National Collaborating Centre for Chronic Conditions (UK); Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21413194/2008/>. Acessado em 20 de outubro de 2014

Nishijima T, Komatsu H, Higasa K, Takano M, Tsuchiya K, Hayashida T, et al. Single nucleotide polymorphisms in ABCC2 associate with tenofovir-induced kidney tubular dysfunction in Japanese patients with HIV-1 infection: a pharmacogenetic study. *Clin Infect Dis*. 2012 Dec;55(11):1558-67.

Norton RM. Clinical pharmacogenomics: applications in pharmaceutical R&D *Drug Discov Today*. 2001 Feb 1;6(4):180-5.

Oldham ML, Davidson AL, Chen J. Structural insights into ABC transporter mechanism. *Curr Opin Struct Biol*. 2008 Dec;18(6):726-33.

Orkin C, DeJesus E, Khanlou H, Stoehr A, Supparatpinyo K, Lathouwers E, et al. Final 192-week efficacy and safety of once-daily darunavir/ritonavir compared with lopinavir/ritonavir in HIV-1-infected treatment-naive patients in the ARTEMIS trial. *HIV Med*. 2013 Jan;14(1):49-59.

Overton ET, Nurutdinova D, Freeman J, Seyfried W, Mondy KE. Factors associated with renal dysfunction within an urban HIV-infected cohort in the era of highly active antiretroviral therapy. *HIV Med*. 2009 Jul;10(6):343-50.

Padilla S, Gutierrez F, Masia M, Canovas V, Orozco C. Low frequency of renal function impairment during one-year of therapy with tenofovir-containing regimens in the real-world: a case-control study. *AIDS Patient Care STDS*. 2005 Jul;19(7):421-4.

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. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med*. 1998 Mar 26;338(13):853-60.

Papadopoulos-Eleopoulos E, Turner VF, Papadimitriou J, Page B, Causer D, Alfonso H, et al. A critique of the Montagnier evidence for the HIV/AIDS hypothesis. *Med Hypotheses*. 2004;63(4):597-601.

Perrot S, Aslangul E, Szwebel T, Caillat-Vigneron N, Le Jeune C. Bone pain due to fractures revealing osteomalacia related to tenofovir-induced proximal renal tubular dysfunction in a human immunodeficiency virus-infected patient. *J Clin Rheumatol*. 2009 Mar;15(2):72-4.

Pirazzoli A, Recchia G. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: are they still promising? *Pharmacol Res*. 2004 Apr;49(4):357-61.

Poggio ED, Wang X, Greene T, Van Lente F, Hall PM. Performance of the modification of diet in renal disease and Cockcroft-Gault equations in the estimation of GFR in health and in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2005 Feb;16(2):459-66.

Post FA, Holt SG. Recent developments in HIV and the kidney. *Curr Opin Infect Dis.* 2009 Feb;22(1):43-8.

Pushpakom SP, Liptrott NJ, Rodriguez-Novoa S, Labarga P, Soriano V, Albalater M, et al. Genetic variants of ABCC10, a novel tenofovir transporter, are associated with kidney tubular dysfunction. *J Infect Dis.* 2011 Jul 1;204(1):145-53.

Ray AS, Cihlar T, Robinson KL, Tong L, Vela JE, Fuller MD, et al. Mechanism of active renal tubular efflux of tenofovir. *Antimicrob Agents Chemother.* 2006 Oct;50(10):3297-304.

Reid G, Wielinga P, Zelcer N, van der Heijden I, Kuil A, de Haas M, et al. The human multidrug resistance protein MRP4 functions as a prostaglandin efflux transporter and is inhibited by nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Aug 5;100(16):9244-9.

Rennick B, Acara M, Glor M. Relations of renal transport rate, transport maximum, and competitor potency for tetraethylammonium and choline. *Am J Physiol.* 1977 May;232(5):F443-7.

Rho M, Perazella MA. Nephrotoxicity associated with antiretroviral therapy in HIV-infected patients. *Curr Drug Saf.* 2007 May;2(2):147-54.

Rifkin BS, Perazella MA. Tenofovir-associated nephrotoxicity: Fanconi syndrome and renal failure. *Am J Med.* 2004 Aug 15;117(4):282-4.

Rockstroh JK, DeJesus E, Henry K, Molina JM, Gathe J, Ramanathan S, et al. A randomized, double-blind comparison of coformulated elvitegravir/cobicistat/emtricitabine/tenofovir DF vs ritonavir-boosted atazanavir plus coformulated emtricitabine and tenofovir DF for initial treatment of HIV-1 infection: analysis of week 96 results. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2013 Apr 15;62(5):483-6.

Rockwood N, Mandalia S, Bower M, Gazzard B, Nelson M. Ritonavir-boosted atazanavir exposure is associated with an increased rate of renal stones compared with efavirenz, ritonavir-boosted lopinavir and ritonavir-boosted darunavir. *AIDS.* 2011 Aug 24;25(13):1671-3.

Rodriguez-Novoa S, Labarga P, Soriano V, Egan D, Albalater M, Morello J, et al. Predictors of kidney tubular dysfunction in HIV-infected patients treated with tenofovir: a pharmacogenetic study. *Clin Infect Dis.* 2009 Jun 1;48(11):e108-16.
Rollot F, Nazal EM, Chauvelot-Moachon L, Kelaidi C, Daniel N, Saba M, et al. Tenofovir-related Fanconi syndrome with nephrogenic diabetes insipidus in a

patient with acquired immunodeficiency syndrome: the role of lopinavir-ritonavir-didanosine. *Clin Infect Dis*. 2003 Dec 15;37(12):e174-6.

Rouse H, Fisher BD, WA. S. *Microbiologia ilustrada*. Porto Alegre: Artmed; 2004.

Ryom L, Mocroft A, Kirk O, Worm SW, Kamara DA, Reiss P, et al. Association between antiretroviral exposure and renal impairment among HIV-positive persons with normal baseline renal function: the D:A:D study. *J Infect Dis*. 2013 May 1;207(9):1359-69.

Saito H, Yamamoto M, Inui K, Hori R. Transcellular transport of organic cation across monolayers of kidney epithelial cell line LLC-PK. *Am J Physiol*. 1992 Jan;262(1 Pt 1):C59-66.

Sakiyama M, Matsuo H, Shimizu S, Nakashima H, Nakayama A, Chiba T, et al. A Common Variant of Organic Anion Transporter 4 (OAT4/SLC22A11) Gene Is Associated with Renal Underexcretion Type Gout *Drug Metab Pharmacokinet*. 2014;29(2):208-10.

Sassi Y, Lipskaia L, Vandecasteele G, Nikolaev VO, Hatem SN, Cohen Aubart F, et al. Multidrug resistance-associated protein 4 regulates cAMP-dependent signaling pathways and controls human and rat SMC proliferation. *J Clin Invest*. 2008 Aug;118(8):2747-57.

Saumoy M, Vidal F, Peraire J, Sauleda S, Veal AM, Vilades C, et al. Proximal tubular kidney damage and tenofovir: a role for mitochondrial toxicity? *AIDS*. 2004 Aug 20;18(12):1741-2.

Scherzer R, Estrella M, Li Y, Choi AI, Deeks SG, Grunfeld C, et al. Association of tenofovir exposure with kidney disease risk in HIV infection. *AIDS*. 2012 Apr 24;26(7):867-75.

Schmid S, Opravil M, Moddel M, Huber M, Pfammatter R, Keusch G, et al. Acute interstitial nephritis of HIV-positive patients under atazanavir and tenofovir therapy in a retrospective analysis of kidney biopsies. *Virchows Arch*. 2007 Jun;450(6):665-70.

Schwartz SA, Nair MP. Current concepts in human immunodeficiency virus infection and AIDS. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1999 May;6(3):295-305.

Sekine T, Miyazaki H, Endou H. Molecular physiology of renal organic anion transporters. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2006 Feb;290(2):F251-61.

Sociedade Brasileira de Química. Drogas anti-HIV: Passado, Presente e Perspectivas Futuras. Disponível em: <http://qnint.sbq.org.br/qni/visualizarTema.php?idTema=41/2003/>. Acessado 25 de julho de 2014.

Sun W, Wu RR, van Poelje PD, Erion MD. Isolation of a family of organic anion transporters from human liver and kidney. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001. May 4;283(2):417-22.

Takeda M, Babu E, Narikawa S, Endou H. Interaction of human organic anion transporters with various cephalosporin antibiotics. *Eur J Pharmacol*. 2002 Mar 8;438(3):137-42.

Taniguchi K, Wada M, Kohno K, Nakamura T, Kawabe T, Kawakami M, et al. A human canalicular multispecific organic anion transporter (cMOAT) gene is overexpressed in cisplatin-resistant human cancer cell lines with decreased drug accumulation. *Cancer Res*. 1996 Sep 15;56(18):4124-9.

Tanihara Y, Masuda S, Sato T, Katsura T, Ogawa O, Inui K. Substrate specificity of MATE1 and MATE2-K, human multidrug and toxin extrusions/H(+)-organic cation antiporters *Biochem Pharmacol*. 2007 Jul 15;74(2):359-71.

Trotta R, Donati MB, Iacoviello L. Trends in pharmacogenomics of drugs acting on hypertension. *Pharmacol Res*. 2004 Apr;49(4):351-6.

van Kuijck MA, Kool M, Merckx GF, Geurts van Kessel A, Bindels RJ, Deen PM, et al. Assignment of the canalicular multispecific organic anion transporter gene (CMOAT) to human chromosome 10q24 and mouse chromosome 19D2 by fluorescent in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet*. 1997 77(3-4):285-7.

Woodward CL, Hall AM, Williams IG, Madge S, Copas A, Nair D, et al. Tenofovir-associated renal and bone toxicity. *HIV Med*. 2009 Sep;10(8):482-7.

Wright SH, Dantzler WH. Molecular and cellular physiology of renal organic cation and anion transport *Physiol Rev*. 2004 Jul;84(3):987-1049.

Xu G, Bhatnagar V, Wen G, Hamilton BA, Eraly SA, Nigam SK. Analyses of coding region polymorphisms in apical and basolateral human organic anion transporter (OAT) genes [OAT1 (NKT), OAT2, OAT3, OAT4, URAT (RST)]. *Kidney Int*. 2005 Oct;68(4):1491-9.

Yagil Y, Yagil C. Insights into pharmacogenomics and its impact upon immunosuppressive therapy. *Transpl Immunol*. 2002 May;9(2-4):203-9.

Yombi JC, Pozniak A, Boffito M, Jones R, Khoo S, Levy J, et al. Antiretrovirals and the kidney in current clinical practice: renal pharmacokinetics, alterations of renal function and renal toxicity. *Official Journal of the International AIDS Society*. 2014;28(5):621-32.

Zhou F, You G. Molecular insights into the structure-function relationship of organic anion transporters OATs. *Pharm Res*. 2007 Jan;24(1):28-36.

Zimmermann AE, Pizzoferrato T, Bedford J, Morris A, Hoffman R, Braden G. Tenofovir-associated acute and chronic kidney disease: a case of multiple drug interactions. *Clin Infect Dis*. 2006 Jan 15;42(2):283-90.

Zolopa A, Sax PE, DeJesus E, Mills A, Cohen C, Wohl D, et al. A randomized double-blind comparison of coformulated elvitegravir/ cobicistat/ emtricitabine/ tenofovir disoproxil fumarate versus efavirenz/emtricitabine/tenofovir disoproxil fumarate for initial treatment of HIV-1 infection: analysis of week 96 results. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2013 May 1;63(1):96-100.

3. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Investigar polimorfismos nos genes que codificam as proteínas transportadoras de fármacos hOAT1, hOAT4, MRP2, MRP4 e glicoproteína P e sua associação com a doença renal crônica decorrente do uso da terapia antirretroviral em pessoas vivendo com HIV e AIDS.

2.2. Objetivos específicos

1- Determinar as frequências dos polimorfismos nos genes de interesse em indivíduos infectados pelo HIV sob terapia antirretroviral há, pelo menos, um ano.

2 - Estimar a prevalência de doença renal crônica em pacientes sob TARV através da taxa de filtração glomerular (TFG), usando as equações pelos métodos MDRD e CKD-EPI;

3 - Verificar a existência de associação entre fármacos específicos componentes da TARV e a redução da função renal;

4 - Comparar as frequências dos polimorfismos investigados entre pacientes HIV positivos sob TARV com e sem doença renal crônica;

5 - Comparar as médias da TFG entre os diferentes genótipos para cada polimorfismo;

6 - Determinar as principais variáveis preditoras (farmacológicas, demográficas, antropométricas e genéticas) da redução da função renal em pacientes sob TARV.

4. ARTIGO CIENTÍFICO

Polymorphisms associated with renal adverse effects of antiretroviral therapy in people living with HIV

**Artigo em preparação para
submissão à revista
Pharmacogenetics and Genomics**

Polymorphisms associated with renal adverse effects of antiretroviral therapy in people living with HIV

Ivete M. da Rocha^a, Aline S. Gasparotto^b, Rosmeri K. Lazzaretti^c, Regina Kuhmmer^c, Eduardo Sprinz^c and Vanessa S. Mattevi^{a,b}

^a Programa de Pós-Graduação em Patologia, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil

^b Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil

^c Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, RS, Brazil

Correspondence should be addressed to:

Vanessa S. Mattevi, Ph.D.

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre,

Rua Sarmiento Leite, 245, sala 309.

90050-170 Porto Alegre, RS, Brazil.

Tel. +55 51 33038763

e-mail: vmattevi@ufcspa.edu.br

Abstract

Objective This study evaluated the impact of seven single nucleotide polymorphisms (SNPs) in five candidate genes (*ABCC2*, *ABCC4*, *ABCB1*, *SLC22A6*, *SLC22A11*) in relation to nephrotoxicity associated with highly active antiretroviral therapy (HAART).

Methods The following SNPs were genotyped by real-time polymerase chain reaction: *ABCB1* rs1045642, *ABCC2* rs717620 and rs2273697, *ABCC4* rs1751034 and rs3742106, *SLC22A6* rs11568626, and *SLC22A11* rs11231809 in 507 HIV-infected patients from the city of Porto Alegre, Southern Brazil receiving ART for, at least, one year.

Results From the 507 HIV-infected patients recruited, 19.1% presented a reduction in estimated glomerular filtration rate (eGFR). A total of 16 (3.2%) patients fulfilled the criteria for chronic kidney disease (CKD, defined as eGFR < 60 mL/min/1.73 m²). Individuals carrying at least one T-allele of *ABCC2* -24 C>T (rs717620) presented lower eGFR than C/C homozygotes (104 ± 22 vs. 108 ± 22 mL/min/1.73 m²; independent samples T-test, P =0.040). HAART predictors of decreased eGFR were tenofovir and atazanavir boosted with ritonavir. In multivariate analysis, the predictors associated with decreased eGFR were time of treatment, tenofovir use, atazanavir/ritonavir use and carrying one T-allele of *ABCC2* -24 C>T.

Conclusion Our data support the importance of genetic factors in the etiology of nephrotoxicity in patients treated with HAART. Studies to verify treatment implications of genotyping before HAART initiation may be advisable to guide the selection of an appropriate antiretroviral therapy regimen.

Keywords single nucleotide polymorphisms, antiretroviral nephrotoxicity, renal dysfunction.

Introduction

The introduction of highly active antiretroviral therapy (HAART) led to a drastic reduction in HIV related morbidity and mortality (1, 2). However, its use, both in the short and the long term, may be associated with the development of severe complications, such as metabolic syndrome, diabetes mellitus and chronic kidney disease (CKD) (3, 4).

The kidney plays an important role in the metabolism and excretion of some antiretrovirals (ARV) and this makes it more vulnerable to various types of injuries, including acute renal failure, tubular dysfunction, nephrolithiasis, obstructive nephropathy and interstitial nephritis (5, 6). Furthermore, the development of long-term HIV-related metabolic complications, such as diabetes mellitus, dyslipidemia, hypertension, and vascular diseases may contribute to the development of chronic kidney disease (7, 8). The ARV tenofovir (TNF), a nucleotide analogue, is widely used worldwide as a part of HAART regimen, and has been increasingly associated to renal toxicity (9-11). The other ARVs most frequently associated with renal injury are indinavir, atazanavir (ATZ), amprenavir, didanosine and lamivudine, although frequent exposure to others can also contribute to kidney disease (12, 13).

Previous studies have identified carrier proteins and organic ions transporters of involved in the pharmacokinetics of antiretroviral drugs (14). Kidney tubular secretion involves protein-mediated uptake of the drug or drug metabolite at the basolateral membrane of tubular cells and protein-mediated efflux at the brush border membrane, also referred to as the apical or luminal membrane (15). It is known that TNF absorption occurs in the basolateral membrane of the proximal

tubular cells and this drug is captured by organic anion transporters (OATs) OAT1 and, to a lesser extent, OAT3 (16). OATs play a central role in renal excretion of water-soluble, negatively charged organic compounds including endogenous waste products, numerous drugs and drug metabolites (17). OATs are members of the solute carrier family 22 (*SLC22*) gene family, which also includes transporters for organic cations and zwitterions. The ARVs didanosine, lamivudine, stavudine, TNF, and zidovudine were shown to be transported by OAT1, encoded by the *SLC22A6* gene on chromosome 11q12.3.

OAT4 is located at the apical membrane of all segments of proximal tubules. Given this location, OAT4 could either take up organic anions from the primary urine (“influx mode”) or release organic anions from the cell into the tubule lumen (“efflux mode”) (17). It is encoded by the *SLC22A11* gene located at 11q13.1.

The ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily comprise one of the largest protein families with representatives in all living organisms and its members are among the most studied proteins for bioavailability and drug effects. The most important members of this family related to renal function are the P-glycoprotein, encoded by the *ABCB1* gene (ATP-binding cassette, subfamily B, member 1, also known as MDR1, the multidrug resistance transporter), MRP2 encoded by *ABCC2* (ABC subfamily C, member 2) and MRP4 encoded by *ABCC4* gene (ABC subfamily C, member 4). These proteins are expressed on the apical side of the proximal tubule cells and perform transport to the lumen during active tubular secretion of various ARVs (16, 18).

Polymorphisms in genes encoding the aforementioned drug transport proteins may affect ARVs bioavailability, and thus help to identify patients at higher risk for developing renal dysfunction associated with the use of ARVs (19, 20).

Therefore, the aim of the present study was to investigate the associations between selected single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the candidate genes *ABCB1*, *ABCC2*, *ABCC4*, *SLC22A6* and *SLC22A11* and renal function in HIV-infected patients on antiretroviral therapy.

Methods

Study sample

Oral swabs or blood samples were collected from 507 HIV- infected patients diagnosed according to the criteria of the Centers for Disease Control and Prevention (21) that were receiving free ART at a public-funded reference service in southern Brazil (outpatient clinic at Hospital de Clínicas, Porto Alegre, Brazil). All patients receiving ART for at least one year were consecutively invited to participate in this cross-sectional study. Subjects were 18 years old or older, and had viral loads below 50 copies/mL (measured by b-DNA; HIV-1 RNA 3.0 assay), which was used as a surrogate of adherence to therapy. Pregnant women and those with neurological disease that prevented understanding and proper consent were not included in the study. The study protocol was approved by the Research Ethics Committees of both Institutions involved, and all participants signed an informed consent statement before they were included in the study (protocol numbers: 06-141 and 11-782).

Study protocol

The routine evaluation consists of visits every 4 months at the reference service for evaluation by the patients' attending physicians as well laboratory evaluations that included measurements such as creatinine (measured by Jaffé calibrated method by isotope dilution mass spectrometry – IDMS), urea, glucose, anti-HCV, HBs-Ag, direct and indirect bilirubin, GOT (glutamyl oxaloacetic transaminase), GPT (glutamyl pyruvic transaminase), T-CD4 counts (cells/uL), and measurement of HIV viral load. Patients were invited to participate in the study and had their information and samples for DNA extraction collected during one of these visits. An interview was performed at enrollment to obtain biodemographic data. Details of HIV infection (time from diagnosis as well as current and prior antiretroviral medications) and relevant clinical variables were obtained from medical records. The interviewer phenotypically defined the patient's ethnicities, because there might be a strong cultural tendency to claim European ancestry in Brazil. Patients were classified as Euro- or Afro-descendants. The Amerindian contribution is very low in the Brazilian South Region (22). Additional characterization of the study sample can be found in (23).

The estimated glomerular filtration rate (eGFR) was obtained using CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology) formula, using standardized serum creatinine, age, race and gender (24, 25).

Genotyping

Genomic DNA was obtained from peripheral leukocytes or buccal mucosa cells by a standard salting-out technique (26). *ABCB1* 3435C>T (rs1045642), *ABCC2* -24 C>T (rs717620) and 1249G>A (rs2273697), *ABCC4* 3463A>G (rs1751034)

and 4131T>G, (rs3742106), *SLC22A6* 728G>A (rs11568626), and *SLC22A11* ~-20kb T>A (rs11231809) were genotyped by real-time polymerase chain reaction using hydrolysis probes to discriminate genotypes (TaqMan, Applied Biosystems, Foster City, CA). Candidate SNPs were selected via review of PubMed reports of SNPs associated with adverse effects of antiretroviral therapy related to nephrotoxicity in people living with HIV and AIDS (19, 27-32).

Statistical analysis

The results are expressed as the mean \pm standard deviation (SD) for continuous variables and proportions for categorical variables. Continuous variables were compared between genotype groups using parametric tests (Student's *t* test or analysis of variance) or nonparametric tests (Mann-Whitney U test and Kruskal-Wallis test), as required. For the comparison of proportions among groups, the chi-squared test was used, with Yates or Fisher's corrections applied when needed, accordance of genotype frequencies with those expected under Hardy-Weinberg equilibrium was tested using chi-squared test. Bivariate and multivariate regression analyses were performed for the identification of factors associated with CKD. Parameters with P values <0.200 in the bivariate analyses were entered into a multivariate analysis and removed stepwise. All statistics were conducted using SPSS, version 20.0, and P values <0.05 were considered to be statistically significant. Linkage disequilibrium between markers (*D'*) was calculated using Haploview 4.2 (33). Haplotype frequencies were estimated by maximum likelihood using the Multiple Locus Haplotype Analysis software, version 2.0 (34).

Power of the study

The analyzed sample has 96.1% power to detect an 8 ml/min/1.73 m² difference with a standard deviation of 22 ml/min/1.73 m² in the eGFR between genotypes for SNPs with minor allele frequency (MAF) > 0.15 with a significance level of 5%.

Results

The main demographic, clinical, and metabolic characteristics of the individuals enrolled in the study are shown in Table 1. Of the 507 patients, 54% were men, 55% were characterized as Euro-descendants, and the mean patient age was 43 ± 10 years. When individuals were categorized according to ethnicity, Afro-descendants presented a higher prevalence of hepatitis C virus (HCV) co-infection and higher eGFR than Euro-descendants. The median duration of HAART was 65 months. Regarding the ARVs used, among the nucleoside reverse transcriptase inhibitors, the most used was the combination of zidovudine and lamivudine (72%). Fifteen percent of our sample (78 individuals) used TNF (Table 1). Forty-eight percent of the individuals used ART containing protease inhibitors; the most used was the combination of lopinavir and ritonavir (LPV/r) (25%), followed by atazanavir and ritonavir (ATZ/r) (13%) and ATZ alone (9%).

The prevalence of alterations in the renal function in the 497 patients whose creatinine serum levels were available is shown in Table 2. As can be observed, 19.1% of patients presented a reduction in eGFR. A total of 16 (3.2%) patients fulfilled the criteria for chronic kidney disease (CKD, defined as eGFR < 60 ml/min/1.73 m²) (35).

The genotype and allele frequencies for the seven SNPs investigated are given in Table 3. The frequencies of the polymorphisms in *ABCB1* and *SLC22A11* genes were different among the ethnic groups, while, for the other SNPs, no

significant differences were observed. Therefore, association analyses for *ABCB1* and *SLC22A11* were also performed separately for each ethnic group and ethnicity was tested as a covariate for multivariate analyses.

To investigate the potential of the studied SNPs to alter renal function, mean eGFR was compared among genotypes. These results are shown in Table 4. Patients carrying at least one T-allele of *ABCC2* -24 C>T presented lower eTFG than C/C homozygotes (104 ± 22 vs. 108 ± 22 mL/min/1.73 m²; independent T-test, $P = 0.040$). Using this approach, no other statistically significant associations were observed.

The two SNPs in *ABCC2* (-24 C>T and 1249 G>A) were found to be in linkage disequilibrium ($D' = 0.915$), and three haplotypes resulting for the combination of them were found: C-G, with a frequency of 0.65, T-G, 0.18, and C-A, 0.17. However, no significant association of haplotypes with eTFG was found.

Multiple regression analysis was used to determine the predictors of renal function in the study population (Table 5). Through the multivariate analysis, we verified that the following parameters were independently associated with reduction in eGFR: age ($r = -0.457$; $P < 0.001$), use of TNF ($r = -0.121$; $P = 0.002$), use of AZT/r ($r = -0.202$; $P < 0.001$), and bearing one T allele at position -24 of *ABCC2* ($r = -0.092$; $P = 0.048$). Together, these factors explain about 29% of variation in eTFG ($r^2 = 0.289$).

Discussion

The long-term use of antiretrovirals in subjects infected by HIV has brought several health side effects, including the alteration in kidney functioning. The aim

of our study was to further investigate whether previously described variants in drug-transporter protein genes may affect the renal function in patients living with HIV under treatment with HAART from Brazil.

First of all, we examined the prevalence of alteration in the renal function in our sample. The prevalence of CKD was 3.2%, which is lower to the ones reported by other studies with HIV-patients that vary from 4.7% to 7.6% (36, 37), including one performed in the same setting as ours that found a prevalence of 8.4% (38). However, these studies used the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) formula to estimate eGFR, while we used the formula proposed by the Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (CKD-EPI), which is considered to better estimate the GFR in HIV-infected subjects (36). Anyway, when we used MDRD, 4% of the present setting presented CKD and 26% presented a mild reduction in kidney function (60-89 mL/min/1.73 m²). These estimates are, also, somewhat lower than reported by previous studies. This finding may be due to the improvement of kidney impairment detection and treatment changes over time. Clinicians are currently aware about the renal toxicity of TNF, and thus avoid the prescription of this drug when patients have previous renal dysfunction, which may have led to underestimation of CKD in our sample. Regardless of these differences, both glomerular filtration rate equations adjust the serum creatinine levels for the effects of muscle mass, age, weight, ethnicity and sex, thus being helpful in the renal dysfunction diagnosis.

Among the most used ARVs, TNF, ATZ and LPV are those most associated with long-term decrease in renal function (37). The secretion of TNF in the urine is known to be mediated through OAT1, OAT3, ABCC4 and ABCC10, although the role of ABCC2 remains uncertain. About 7% of an ATZ dose is excreted

unchanged in urine (28). ATZ sulfate displays low solubility in alkaline urine, having the potential to induce renal failure due to tubular and/or interstitial crystal deposition. Furthermore, ritonavir (RTV), which is commonly used as a booster of other protease inhibitors, is known to act as an inhibitor of several kidney drug transporters, as OAT1, OAT3, ABCB1, ABCB2 and ABCC4, thus having the potential to reduce tubular secretion of creatinine and to interact with other ARVs to increase serum creatinine and reduce eGFR. In accordance with these pharmacokinetic information and with previous clinical trials, we found that the use of TNF or ATZ/r in our sample increased the risk of reduction in kidney functioning. According to a review performed recently by Yombi et al (37), LPV/r has been associated with eGFR reduction, but evidence for direct adverse effects on the kidney is lacking. Our findings are in accordance with these information, as we have not found that the use of LPV/r as a predictor of decline in eGFR.

ABCC2 is expressed in several tissues, including the apical luminal membrane of epithelial proximal tubular cells of the kidney (39). There, it actively excretes various substances and their anion conjugates. From the seven candidate SNPs investigated herein, we found that the only significant predictor of reduction in eGFR was the T-allele of *ABCC2* -24C>T variant. Expression studies in human kidney cortex revealed that the SNP -24C>T, but not 1249G>A and 3972C>T, correlated significantly with mRNA levels (39), with T-carriers presenting lower mRNA levels than C/C homozygotes. Furthermore, in this same study, a reporter gene assay in HepG2 cells showed that the -24T construct showed an 18.7% reduced activity. In these cells, miRNA-379 was identified as a regulator of *ABCC2* protein expression (40). A more recent study (41) revealed that *ABCC2* is also down regulated by this microRNA in peripheral blood monocytic cells

(PBMCs), with T-bearing *ABCC2* haplotypes displaying stronger suppression at the mRNA and protein level, probably due to differences in mRNA secondary structures, resulting in changes in mRNA target accessibility or mRNA stability.

We found two previous pharmacogenetic studies investigating the same gene variants analyzed herein. The first was performed with 115 HIV patients from Spain receiving tenofovir, and verified that only genotype CC of *ABCC2* was associated with kidney tubular dysfunction (KTD) (29). The second comprised 190 Japanese patients receiving tenofovir and found that, from 14 gene variants, only the *ABCC2* haplotype -24T and 1249G was protective from KTD (31). Despite these studies are not entirely comparable to our sample in terms of ethnicity, HIV treatment or endpoint, all studies found only significant associations with kidney dysfunction in the same candidate gene, *ABCC2*. However, both previous studies found that the C-allele would increase the risk of KTD, while we herein observed that T-carriers display a lower eTFG. Although our findings are in line with functional evidence that the T-allele confers lower expression of *ABCC2* in renal tissue, probably reducing the extrusion of ARVs from the tubular cells and thus promoting their toxicity, these contradictory findings deserve further clarification.

Some limitations of our study must be acknowledged. First, only a limited number of polymorphisms in candidate transporters was examined. This way, we cannot exclude the role of other unexplored genotypes in these same genes have some impact on susceptibility to nephrotoxicity. Second, we analyzed patients using different HAART regimens, which makes more difficult to interpret pharmacogenetic data. From another point of view, this allows us to expand the association results previous found only in TNF users to other patients as well.

Other aspect of our study is noteworthy. This is the first study to our knowledge that investigated the effect of SNPs on kidney functioning in HIV-infected individuals conducted in a South American country. Our study examined Euro and Afro descendant patients with different genetic background from patients of previous studies, showing that the effect of the *ABCC2* gene in HAART-related kidney impairment may be extended to the American continent as well. Brazil constitutes a very important model for the investigation of HAART adverse effects, since the distribution of ARVs is free and available to all the patients in the country, being provided by publicly funded health services that congregate a large amount of patients being treated along the same guidelines.

Kidney tubular damage is often multifactorial, and HAART associated renal dysfunction is unlikely to be an exception. In addition to the previous known impact of ARVs, genetic polymorphisms as *ABCC2* -24C>T might influence the risk for developing nephrotoxicity. Renal impairment is insidious, frequently being detected only through laboratory evaluations. Our results indicate that the role of genetic variation in modulating this complication must be further investigated in an attempt to prevent the progression of CKD.

Acknowledgements

The authors wish to thank Grasiela Agnes for her assistance with the experiments.

This work was supported by Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais, Ministério da Saúde, Brazil, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Fundação de amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) and PRONEX-FAPERGS/CNPq, Brazil.

References

1. UNAIDS. An aids Report on the Global Aids Epidemic. Available from: http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2013/gr2013/UNAIDS_Global_Report_2013_en.pdf.
2. Henry K. Antiretroviral medications as prevention: will the new paradigm reverse the HIV epidemic? *Minn Med*. 2012 Aug;95(8):48-50.
3. Calza L. Renal toxicity associated with antiretroviral therapy. *HIV Clin Trials*. 2012 Jul-Aug;13(4):189-211.
4. Madeddu G, Tiziana Quirino T, Carradori S, Ricci H, C. G, Penco G, et al. Renal toxicity in HIV-infected patients receiving HAART including tenofovir. *Le Infezioni in Medicina*, n 3, 125-134. 2006.
5. Jao J, Wyatt CM. Antiretroviral medications: adverse effects on the kidney. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2010 Jan;17(1):72-82.
6. Izzedine H, Harris M, Perazella MA. The nephrotoxic effects of HAART. *Nat Rev Nephrol*. 2009 Oct;5(10):563-73.
7. Estrella MM, Fine DM, Atta MG. Recent developments in HIV-related kidney disease. *HIV Ther*. 2010 Sep;4(5):589-603.
8. Roling J, Schmid H, Fischereder M, R.; Draenert R, Goebel FD. HIV-Associated Renal Diseases and Highly Active Antiretroviral Therapy–Induced Nephropathy. *Clinical Infectious Diseases*. 2006;42(1488–95).
9. Calza L, Trapani F, Salvadori C, Magistrelli E, Manfredi R, Colangeli V, et al. Incidence of renal toxicity in HIV-infected, antiretroviral-naive patients starting tenofovir/emtricitabine associated with efavirenz, atazanavir/ritonavir, or lopinavir/ritonavir. *Scand J Infect Dis*. 2013 Feb;45(2):147-54.
10. Gupta A, Bugeja A, Kirpalani D. Tenofovir-induced nephrotoxicity: myths and facts. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2012 Jan;23(1):148-9.

11. Krummel T, Parvez-Braun L, Frantzen L, Lalanne H, Marcellin FL, Hannedouche T. Tenofovir-induced acute renal failure in an HIV patient with normal renal function. *oxford journals*. 2013.
12. Mocroft A, Kirk O, Reiss P, De Wit S, Sedlacek D, Beniowski M, et al. Estimated glomerular filtration rate, chronic kidney disease and antiretroviral drug use in HIV-positive patients. *AIDS*. 2010 Jul 17;24(11):1667-78.
13. Crane HM, Kestenbaum B, Harrington RD, Kitahata MM. Amprenavir and didanosine are associated with declining kidney function among patients receiving tenofovir. *AIDS*. 2007 Jul 11;21(11):1431-9.
14. Cihlar T, Ho ES, Lin DC, Mulato AS. Human renal organic anion transporter 1 (hOAT1) and its role in the nephrotoxicity of antiviral nucleotide analogs. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*. 2001 Apr-Jul;20(4-7):641-8.
15. Robertson EE, Rankin GO. Human renal organic anion transporters: characteristics and contributions to drug and drug metabolite excretion. *Pharmacol Ther*. 2006 Mar;109(3):399-412.
16. Griffin L, Annaert P, Brouwer KL. Influence of drug transport proteins on the pharmacokinetics and drug interactions of HIV protease inhibitors. *J Pharm Sci*. 2011 Sep;100(9):3636-54.
17. Burckhardt G. Drug transport by Organic Anion Transporters (OATs). *Pharmacol Ther*. 2012 Oct;136(1):106-30.
18. Ray AS, Cihlar T, Robinson KL, Tong L, Vela JE, Fuller MD, et al. Mechanism of active renal tubular efflux of tenofovir. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Oct;50(10):3297-304.

19. Bleasby K, Hall LA, Perry JL, Mohrenweiser HW, Pritchard JB. Functional consequences of single nucleotide polymorphisms in the human organic anion transporter hOAT1 (SLC22A6). *J Pharmacol Exp Ther* 2005;314(2):923-31.
20. Michaud V, Bar-Magen T, Turgeon J, Flockhart D, Desta Z, Wainberg MA. The dual role of pharmacogenetics in HIV treatment: mutations and polymorphisms regulating antiretroviral drug resistance and disposition. *Pharmacol Rev.* 2012 Jul;64(3):803-33.
21. Schneider E, Whitmore S, Glynn KM, Dominguez K, Mitsch A, McKenna MT. Revised surveillance case definitions for HIV infection among adults, adolescents, and children aged <18 months and for HIV infection and AIDS among children aged 18 months to <13 years--United States, 2008. *MMWR Recomm Rep.* 2008 Dec 5;57(RR-10):1-12.
22. Zembrzuski VM, Callegari-Jacques SM, Hutz MH. Application of an African Ancestry Index as a genomic control approach in a Brazilian population. *Ann Hum Genet.* 2006 Nov;70(Pt 6):822-8.
23. Lazzaretti RK, Gasparotto AS, Sassi MG, Polanczyk CA, Kuhmmer R, Silveira JM, et al. Genetic markers associated to dyslipidemia in HIV-infected individuals on HAART. *ScientificWorldJournal.* 2013;2013:608415.
24. Kilbride HS, Stevens PE, Eaglestone G, Knight S, Carter JL, Delaney MP, et al. Accuracy of the MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) study and CKD-EPI (CKD Epidemiology Collaboration) equations for estimation of GFR in the elderly. *Am J Kidney Dis.* 2013 Jan;61(1):57-66.
25. Carter JL, Stevens PE, Irving JE, Lamb EJ. Estimating glomerular filtration rate: comparison of the CKD-EPI and MDRD equations in a large UK cohort with particular emphasis on the effect of age. *QJM.* 2011 Oct;104(10):839-47.

26. Lahiri DK, Nurnberger JI, Jr. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acids Res.* 1991 Oct 11;19(19):5444.
27. Kiser JJ, Aquilante CL, Anderson PL, King TM, Carten ML, Fletcher CV. Clinical and genetic determinants of intracellular tenofovir diphosphate concentrations in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2008 Mar 1;47(3):298-303.
28. Izzedine H, Hulot JS, Villard E, Goyenvalle C, Dominguez S, Ghosn J, et al. Association between ABCC2 gene haplotypes and tenofovir-induced proximal tubulopathy. *J Infect Dis.* 2006 Dec 1;194(11):1481-91.
29. Rodriguez-Novoa S, Labarga P, Soriano V, Egan D, Albalater M, Morello J, et al. Predictors of kidney tubular dysfunction in HIV-infected patients treated with tenofovir: a pharmacogenetic study. *Clin Infect Dis.* 2009 Jun 1;48(11):e108-16.
30. Rodriguez-Novoa S, Labarga P, Soriano V. Pharmacogenetics of tenofovir treatment. *Pharmacogenomics.* 2009 Oct;10(10):1675-85.
31. Nishijima T, Komatsu H, Higasa K, Takano M, Tsuchiya K, Hayashida T, et al. Single nucleotide polymorphisms in ABCC2 associate with tenofovir-induced kidney tubular dysfunction in Japanese patients with HIV-1 infection: a pharmacogenetic study. *Clin Infect Dis.* 2012 Dec;55(11):1558-67.
32. Owen A, Pirmohamed M, Khoo SH, Back DJ. Pharmacogenetics of HIV therapy. *Pharmacogenet Genomics.* 2006 Oct;16(10):693-703.
33. Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ. Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics.* 2005 Jan 15;21(2):263-5.

34. Turatti L, Sprinz E, Lazzaretti RK, Kuhmmer R, Agnes G, Silveira JM, et al. Short communication: UGT1A1*28 variant allele is a predictor of severe hyperbilirubinemia in HIV-infected patients on HAART in southern Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2012 Sep;28(9):1015-8.
35. (UK) TNCCfCC, editor. *Chronic Kidney Disease: National Clinical Guideline for Early Identification and Management in Adults in Primary and Secondary Care*. 2011/03/18 ed. London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 2008.
36. Ibrahim F, Hamzah L, Jones R, Nitsch D, Sabin C, Post FA. Comparison of CKD-EPI and MDRD to estimate baseline renal function in HIV-positive patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2012 Jun;27(6):2291-7.
37. Yombi JC, Pozniak, A., Boffito, M., Jones, R., Khoo, S., Levy, J., Post, A.F. Antiretrovirals and the kidney in current clinical practice: renal pharmacokinetics, alterations of renal function and renal toxicity. *Official Journal of the International AIDS Society*. 2014;28(5):621-32.
38. Menezes AM, Torelly J, Jr., Real L, Bay M, Poeta J, Sprinz E. Prevalence and risk factors associated to chronic kidney disease in HIV-infected patients on HAART and undetectable viral load in Brazil. *PLoS One*. 2011;6(10):e26042.
39. Haenisch S, Zimmermann U, Dazert E, Wruck CJ, Dazert P, Siegmund W, et al. Influence of polymorphisms of ABCB1 and ABCC2 on mRNA and protein expression in normal and cancerous kidney cortex. *Pharmacogenomics J*. 2007 Feb;7(1):56-65.
40. Haenisch S, Laechelt S, Bruckmueller H, Werk A, Noack A, Bruhn O, et al. Down-regulation of ATP-binding cassette C2 protein expression in HepG2

cells after rifampicin treatment is mediated by microRNA-379. *Mol Pharmacol.* 2011 Aug;80(2):314-20.

41. Werk AN, Bruckmueller H, Haenisch S, Cascorbi I. Genetic variants may play an important role in mRNA-miRNA interaction: evidence for haplotype-dependent downregulation of ABCC2 (MRP2) by miRNA-379. *Pharmacogenet Genomics.* 2014 Jun;24(6):283-91.

Table 1 Characteristics of the study population

	Total sample (n = 507)	Euro- descendants (n = 280)	Afro- descendants (n = 227)	<i>P</i> value
Age, years	43 ± 10	43 ± 10	43 ± 9	0.823 ^c
Sex				
Male	273 (54%)	144 (51%)	129 (57%)	0.261 ^d
Female	234 (46%)	136 (49%)	98 (43%)	
Time of therapy (months)	65 (12 – 199)	69 (12 – 199)	58 (12 – 192)	0.143 ^e
CD4 (cells/μL)	520 (51 – 1946)	521 (52 – 1824)	493 (51 – 1946)	0.798 ^e
Anti-HCV (reagent) ^a	103 (20%)	43 (15%)	60 (26%)	< 0.001 ^d
HAART, n(%)				
Tenofovir	78 (15%)	47 (17%)	31 (14%)	0.390
Ips	241 (48%)	141 (50%)	100 (44%)	0.185 ^d
Atazanavir	45 (9%)	23 (8%)	22 (10%)	0.671 ^d
Atazanavir/r ^b	67 (13%)	37 (13%)	30 (13%)	1.000 ^d
Lopinavir/r ^b	125 (25%)	80 (29%)	45 (20%)	0.030 ^d
Metabolic parameters				
Urea (mg/dL)	32 ± 10	32 ± 11	31 ± 10	0.321 ^c
Creatinine (mg/dL)	0.84 ± 0.28	0.85 ± 0.30	0.82 ± 0.24	0.228 ^c
Total bilirubin (mg/dL)	1.4 ± 1.2	1.1 ± 1.2	1.0 ± 1.1	0.678 ^e
Fasting glucose (mg/dL)	95 ± 18	95 ± 14	96 ± 21	0.430 ^c
eGFR (mL/min/1.73 m ²)	107 ± 22	99 ± 19	116 ± 20	<0.001 ^c

Data presented as mean ± SD, median (range) or number of patients (%). PI: protease inhibitors; eGFR: estimated glomerular filtration rate.

^a Data available for 407 samples

^b /r, ritonavir

^c t-test for independent samples

^d Chi-square test with Yates correction

^e Mann-Whitney – U – test

Table 2 Prevalence of alteration in the renal function according to Kidney Disease Outcomes Quality Initiative, assessed by CKD-EPI in 497 HIV patients

Renal function	eGFR (mL/min/1.73m ²)	number of individuals (%)
Normal	≥ 90	402 (80.9%)
Mild reduction	60-89	79 (15.9%)
Moderate reduction	30-59	15 (3.0%)
Severe reduction	15-29	0 (0)
Renal failure or dialysis	< 15	1 (0.2%)

CKD-EPI, Chronic Kidney Disease Epidemiological Collaboration; eGFR, estimated glomerular filtration rate.

Table 3 Genotype and allele frequencies of the polymorphisms analyzed according to ethnic group

SNP (rs) / genotypes/ alleles	Total sample	Euro descendants	Afro descendants	<i>P</i> value ^a
<i>ABCB1</i> 3435 C>T	(rs 1045642)			
CC	158 (33)	72 (27)	86 (41)	0.007
CT	222 (47)	137 (52)	85 (40)	
TT	93 (20)	54 (21)	39 (19)	
T	0.43	0.47	0.39	
<i>ABCC2</i> -24 C>T	(rs717620)			
CC	328 (69)	172 (66)	156 (73)	0.128
CT	126 (26)	79 (30)	47 (22)	
TT	22 (5)	11 (4)	11 (5)	
T	0.18	0.19	0.16	
<i>ABCC2</i> 1249 G>A	(rs2273697)			
GG	323 (68)	169 (64)	154 (74)	0.071
GA	136 (29)	87 (33)	49 (23)	
AA	13 (3)	7 (3)	6 (3)	
A	0.17	0.19	0.15	
<i>ABCC4</i> 3463 A>G	(rs1751034)			
AA	296 (63)	164 (64)	132 (63)	0.195
AG	150 (32)	85 (33)	65 (31)	
GG	22 (5)	8 (3)	14 (7)	
G	0.21	0.20	0.22	
<i>ABCC4</i> 4131 T>G	(rs3742106)			
TT	165 (35)	87 (33)	78 (37)	0.112
TG	230 (48)	125 (47)	105 (50)	
GG	80 (17)	53 (20)	27 (13)	
G	0.41	0.44	0.38	
<i>SLC22A6</i> 728 G>A	(rs11568626)			
GG	473 (99)	260 (98)	213 (99)	0,166
GA	6 (1)	5 (2)	1 (1)	
A	0.01	0.01	0.01	
<i>SLC22A11</i> - 20kb T>A	(rs11231809)			
TT	227 (48)	112 (43)	115 (55)	0.037
TA	180 (38)	109 (42)	71 (34)	
AA	64 (14)	40 (15)	24 (11)	
A	0.33	0.36	0.28	

Data are no. (%) of patients and relative frequency for alleles.

^a *P* value for chi-squared tests between Euro and Afro-descendants.

Table 4 Mean estimated glomerular filtration rate according to genotypes of the SNPs analyzed

SNP/ genotypes/alleles	n	Mean eGFR (SD)	P value
<i>ABCB1</i> 3435 C>T (rs 1045642)			
CC	156	109 (22)	0.067 ^a
CT	215	107 (21)	
TT	93	102 (23)	
<i>ABCC2</i> -24 C>T (rs717620)			
CC	321	108 (22)	0.040 ^b
T-carriers	146	104 (22)	
<i>ABCC2</i> 1249 G>A (rs2273697)			
GG	318	106 (23)	0.338 ^b
A-carriers	145	108 (19)	
<i>ABCC4</i> 3463 A>G (rs1751034)			
AA	291	106 (22)	0.446 ^b
G-carriers	168	108 (21)	
<i>ABCC4</i> 4131 T>G (rs3742106)			
TT	161	106 (25)	0.804 ^a
TG	225	107 (21)	
GG	80	105 (19)	
<i>SLC22A6</i> 728 G>A (rs11568626)			
GG	464	107 (22)	0.981 ^b
GA	6	107 (24)	
<i>SLC22A11</i> -20kb T>A (rs11231809)			
TT	224	107 (23)	0.633 ^a
TA	176	106 (21)	
AA	62	108 (19)	

SNP, single nucleotide polymorphism; eGFR, estimated glomerular filtration rate, mL/min/1.73 m².

^a One-way analysis of variance

^b Independent samples t-test

Table 5 Predictors of glomerular filtration rate in HIV infected patients treated with antiretrovirals

Factor	Bivariate analysis		Multivariate analysis		
	r	P	β	P	Γ_{partial}
Age (years)	-0.478	< 0.001	- 0.436	< 0.001	-0.457
Glucose (mg/dL)	-0.075	0.101			
Hepatitis C virus co-infection	0.094	0.063			
Use of Tenofovir	-0.184	< 0.001	-0.121	0.002	-0.140
Use of Atazanavir-r	-0.257	< 0.001	-0.202	< 0.001	-0.228
CD4 cell count (per cell/mL)	0.049	0.280			
<i>ABCB1</i> 3435 T allele	-0.066	0.157			
<i>ABCC2</i> -24 T allele	-0.095	0.040	-0.078	0.048	-0.092
<i>ABCC2</i> 1249 A allele	0.045	0.338			
<i>ABCC4</i> 3463 G allele	0.036	0.446			
<i>ABCC4</i> 4131 G allele	0.008	0.865			
<i>SLC22A11</i> -20kb A allele	-0.026	0.577			

Factors with $P < 0.200$ in the bivariate analysis were entered into the multivariate analysis. For the multivariate analysis ($r^2 = 0.289$), only data for statistically significant factors ($P < .05$) were kept in the final model.


5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Vários esforços têm sido realizados no sentido de melhorar a qualidade de vida dos pacientes em uso da TARV, no sentido de reduzir os efeitos adversos. A farmacogenética tem sido impulsionada por avanços que conduziram à expectativa de que a eficácia dos medicamentos seria melhorada pela personalização terapêutica com base em dados genéticos dos (Michaud an Bar-Magen 2012) pacientes.

Existem vários fatores que podem contribuir para a doença renal crônica na infecção por HIV. Nosso estudo teve com objetivo verificar a predisposição genética através da avaliação de polimorfismos existentes em genes que codificam proteínas de transportadoras de antirretrovirais para dentro e fora das células renais. Porém, longe de esgotar o assunto, restam ainda várias questões a serem resolvidas, como a investigação de outros polimorfismos nestes genes e em outros candidatos a participar da farmacocinética e da farmacodinâmica dos antirretrovirais. A realização de estudos mais abrangentes e com seguimento longitudinal dos pacientes é, sem dúvida, um imperativo.

O desenvolvimento de novas tecnologias para genotipagem em larga escala promete, em um futuro não muito distante, uma queda em seus custos, trazendo consigo a possibilidade de incorporação das análises dos chamados “farmacogenes” na prática clínica. Com essas informações, acredita-se que será possível construir um modelo de uma terapia individualizada para cada paciente, almejando o fármaco certo para o paciente certo, na dose certa, o que levará a uma maior segurança dos pacientes em tratamento com ARV, quanto ao desenvolvimento de nefrotoxicidade e outros efeitos adversos.

6.ANEXOS

 **COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE**

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP
UFCSA**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFCSA, registrado na Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) sob o nº 075/05 em 23/07/04, analisou o Projeto:

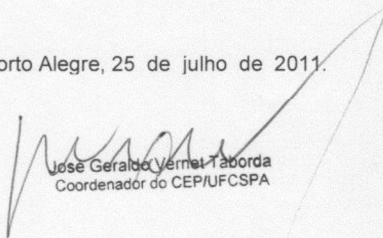
Projeto: 11-782 **Versão do Projeto:** **Versão do TCLE:**

Pesquisadores:
VANESSA SUÑE MATTEVI
ROSMERI KUHMMER LAZZARETTI
REGINA KUHMMER
EDUARDO SPRINZ
IVETE TEREZINHA MACHADO DA ROCHA

Título: INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS ASSOCIADOS AOS EFEITOS ADVERSOS DA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL RELACIONADOS À NEFROTOXICIDADE EM PESSOAS VIVENDO COM HIV E AIDS.

Esse projeto foi aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos conforme as Resoluções 196/09 e demais Resoluções complementares. Toda e qualquer alteração do projeto, assim como eventos adversos graves, deverão ser comunicados a este CEP. Os TCLE, quando necessários, somente poderão ser utilizados após prévia e explícita aprovação (carimbo) de sua redação por este CEP".

Porto Alegre, 25 de julho de 2011.


José Geraldo Vernal Taborda
Coordenador do CEP/UFCSA