



**ENZIMA INTEGRASE: UM ALVO TERAPÊUTICO VALIDADO
PARA O DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS
ANTIRRETROVIRAIS**

Ana Rita Ramos Bernardo

Dissertação

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação da Professora Doutora Maria de Lurdes dos Santos
Cristiano

Faro, setembro de 2019



**ENZIMA INTEGRASE: UM ALVO TERAPÊUTICO VALIDADO
PARA O DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS
ANTIRRETROVIRAIS**

Ana Rita Ramos Bernardo

Dissertação

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho efetuado sob a orientação da Professora Doutora Maria de Lurdes dos Santos
Cristiano

Faro, setembro de 2019

ENZIMA INTEGRASE: UM ALVO TERAPÊUTICO VALIDADO PARA O DESENVOLVIMENTO DE FÁRMACOS ANTIRRETROVIRAIS

Declaração de autoria de trabalho:

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

Ana Rita Ramos Bernardo

(Ana Rita Ramos Bernardo)

© Copyright: Ana Rita Ramos Bernardo

A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

Agradecimentos

Ao fim de 5 anos desta longa caminhada, finalmente chegou a altura de oficializar os meus sinceros agradecimentos a todos, que de alguma maneira me acompanharam neste percurso académico.

Em primeiro lugar quero agradecer à minha família, em especial à minha mãe, ao meu pai e à minha irmã, que são as pessoas mais importantes da minha vida, que me apoiaram incondicionalmente neste percurso e sempre acreditaram em mim. Obrigada por tudo e espero nunca vos desiludir.

Quero agradecer à Professora Doutora Maria de Lurdes dos Santos Cristiano por ter aceite ser a minha orientadora da dissertação. Agradeço a confiança depositada no meu trabalho e toda a sua dedicação e apoio na realização desta dissertação.

Quero deixar um agradecimento especial ao meu namorado e melhor amigo, Pedro Firmino, por ter sido o meu maior apoio nestes 5 anos, pela sua compreensão, pela sua paciência incalculável e por todos os conselhos que me fizeram crescer a nível pessoal. Obrigada por todo o amor e amizade.

Agradeço às minhas amigas, Rita e Adriana, por mesmo longe, ambas terem tido um papel crucial no meu percurso académico. Obrigada por todo apoio e amizade. Vocês são as melhores.

À Iara e à Jéssica, um obrigado especial, pois tornaram estes últimos anos memoráveis. Obrigada pelas noites de estudos e pelas noites de farra, mas principalmente pela vossa amizade.

Ao Hugo, que se tornou num irmão de curso, quero agradecer-te por estes 5 anos de companheirismo e amizade. És das melhores pessoas que levo comigo. Obrigada por todos os desabafos.

Quero agradecer à Mariana “Nana”, pela amizade que foi crescendo neste último ano de curso, por todas as conversas, pelas tardes de estudo e pelos lanches disponíveis.

Ao Pedro Guiomar, quero agradecer por toda a amizade durante estes 5 anos e por todas as noites de festa. Obrigada “mánito”.

Quero agradecer à Farmácia do Shopping pela oportunidade de estágio e por todo o saber transmitido. Um obrigado especial a toda a equipa.

À Matilde, quero deixar um agradecimento por todo apoio que deu neste percurso. Obrigada pela amizade e por seres a pessoa que está sempre presente.

Às minha colegas de casa e de curso, Filipa e Cláudia, agradeço a vossa amizade e apoio nas melhores e piores alturas.

Por último, às minhas afilhadas e afilhados de curso, agradeço a confiança que depositaram em mim para vos orientar neste percurso académico.

Resumo

O vírus da imunodeficiência humana (VIH) é um retrovírus que tem como alvo o sistema imunológico, provocando o enfraquecimento do sistema de defesa dos indivíduos contras as infeções e conseqüentemente tornando-os imunodeficientes. Quando a contagem de linfócitos T CD4 é inferior a 200 células/ μ L considera-se que o individuo possui a síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA). Apesar do esforço que tem sido feito para controlar esta doença, estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) revelam que, em 2018, cerca de 37,9 milhões de pessoas são portadoras de VIH, das quais 770 mil resultaram em morte por causas relacionadas com a infeção.

Muito se fez, entretanto, em Portugal e noutros países, para travar o vírus. Foram implementados programas para promover a prevenção, como por exemplo a campanha “Diz não a uma seringa em segunda mão”. No âmbito deste programa foram distribuídas e trocadas cerca de 1 milhão seringas, em Portugal. As campanhas para a prevenção insistem em cuidados como a utilização de preservativo, limitar o número de parceiros sexuais e nunca compartilhar agulhas, medidas que contrariam a transmissão do vírus.

No entanto estas medidas de prevenção não são suficientes para travar a epidemia, sendo necessário utilizar terapêutica antirretroviral para promover a redução da mortalidade, o aumento da esperança média de vida e a melhoria do prognóstico de doentes que vivem com o vírus. A FDA reconhece seis classes diferentes de antirretrovirais, classificados de acordo com o alvo terapêutico, que atuam nas diferentes fases do ciclo replicativo do vírus. No entanto, o arsenal terapêutico existente para o VIH apresenta imensas lacunas, essencialmente devidas ao rápido desenvolvimento de resistências aos fármacos com atividade antirretroviral, incluindo aos inibidores de integrase mais recentemente desenvolvidos. Assim, o desenvolvimento de novos fármacos antirretrovirais é desafiante e muito relevante, sendo necessário conhecer os mecanismos de ação e as limitações dos fármacos, bem como os respetivos mecanismos de resistência.

A presente dissertação apresenta uma revisão bibliográfica relativa às características e impacto global do VIH, às estratégias terapêuticas atuais, elencando as suas limitações, e às perspetivas futuras relativamente ao desenvolvimento de inibidores da integrase.

Palavras-chave: VIH, Fármacos antirretrovirais, Integrase, Inibidores da Integrase, Mecanismos de ação, Seleção para resistência.

Abstract

The Human Immunodeficiency Virus (HIV) is a retrovirus that targets the immunology system, causing the individual's defensive system against infections to weaken, consequently rendering the individual immunodeficient. When the lymphocytes T CD4 count is inferior to 200 cells/ μ L it is considered that the individual has Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). Despite the efforts to control this disease, World Health Organization (WHO) estimates reveal that in 2018 there are still 37,9 million people living with HIV infection, among which almost 770 thousand result in death by causes related to the virus.

A lot has been made, in Portugal and in other countries, to stop the virus. Programs to promote prevention such as "Say no to a second-hand syringe" had a great impact. During the course of this program, in Portugal, about 1 million syringes were handed out, and then safely taken care of. Other measures to prevent contamination include the free distribution of condoms and other social interventions on education for health, advising control of the number of sex partners and never sharing syringes or needles.

Despite all the efforts, these measures have not been capable to prevent this epidemic from spreading, so the introduction of antiretroviral therapeutics to reduce mortality, increase average life expectancy and improve the prognosis of patients that live with the virus is mandatory. The Food and Drug Administration (FDA), recognizes six different types of antiretrovirals, classified according to the therapeutic target, that act in the different replicative stages of the virus. However, the VIH chemotherapy presents liabilities, the most threatening being the fast development of resistance by the HIV virus against drugs in use for antiretroviral activity, including the most recent integrase inhibitors. Therefore, it is extremely important to increase the arsenal of antiretroviral drugs, which requires solid information on mechanisms of action, limitations and resistance mechanisms.

The present dissertation provides a bibliographical review regarding the characteristics and global impact of HIV, the current therapeutic strategies, their limitations and the future prospects of recently developed integrase inhibitors.

Keywords: HIV, Antiretroviral drugs, Integrase, Integrase Inhibitors, Mechanisms of drugs action, Selection for resistance.

Índice Remissivo

Agradecimentos	i
Resumo	iii
Abstract	v
Índice de Figuras	ix
Índice de Tabelas	xi
Lista de abreviaturas	xv
1 Introdução	1
1.1 Nota histórica sobre o vírus da imunodeficiência humana	1
1.1.1 Taxonomia	3
1.1.2 Transmissão.....	3
1.1.3 Sintomas.....	4
1.1.4 Diagnóstico.....	4
1.2 Dados Epidemiológicos	5
1.3 Estrutura do VIH	7
1.4 Replicação do VIH	8
2 Terapêutica antirretroviral	9
2.1 Inibidores da Transcriptase Reversa Nucleosídicos.....	10
2.1.1 Zidovudina	11
2.1.2 Didanosina.....	13
2.1.3 Estavudina	14
2.1.4 Lamivudina	15
2.1.5 Abacavir.....	16
2.1.6 Tenofovir Disoproxil Fumarato.....	17
2.1.7 Emtricitabina	18
2.1.8 Resumo da informação terapêutica relativa aos NRTI	19
2.1.9 Seleção para resistências aos NRTI.....	20
2.2 Inibidores da Transcriptase Reversa Não Nucleosídicos	21
2.2.1 Nevirapina	21
2.2.2 Efavirenz.....	22
2.2.3 Etravirina	23
2.2.4 Rilpivirina.....	24
2.2.5 Resumo da informação terapêutica relativa aos NNRTI.....	24

2.2.6	Seleção para resistências aos NNRTI	25
2.3	Inibidores da Protease	26
2.3.1	Saquinavir.....	26
2.3.2	Indinavir	27
2.3.3	Lopinavir/Ritonavir	28
2.3.4	Atazanavir.....	29
2.3.5	Tipranavir	30
2.3.6	Darunavir.....	31
2.3.7	Resumo da informação terapêutica relativa aos IP.....	31
2.3.8	Seleção para resistências aos IP	32
2.4	Inibidores de fusão	33
2.5	Inibidores dos co-recetores CCR5.....	33
3	Enzima Integrase	35
3.1	Processo de Integração	37
4	Inibidores da Integrase	39
4.1	Raltegravir	40
4.1.1	Seleção para resistências ao raltegravir	42
4.2	Elvitegravir.....	42
4.2.1	Seleção para resistências ao elvitegravir	44
4.3	Dolutegravir.....	45
4.3.1	Seleção para resistências ao dolutegravir	47
5	HAART	49
6	Perspetivas Futuras dos InSTI	51
7	Conclusão	55
8	Referências Bibliográficas.....	57

Índice de Figuras

Figura 1.1. Representação da estrutura do VIH.	7
Figura 2.1. Representação dos alvos de ação dos fármacos usados na terapia antirretroviral.	10
Figura 2.2. Representação da estrutura química da zidovudina e do seu metabolito ativo, a zidovudina 5'-trifosfato.	12
Figura 2.3. Representação da estrutura química da didanosina e do seu metabolito ativo, o 5'-trifosfato de dideoxiadenosina.....	13
Figura 2.4. Representação da estrutura química da estavudina e do seu metabolito ativo, a estavudina 5'-trifosfato.	14
Figura 2.5. Representação da estrutura química da lamivudina e do seu metabolito ativo, a lamivudina 5'-trifosfato.....	15
Figura 2.6. Representação da estrutura química do abacavir e do seu metabolito ativo, o carbovir 5'-trifosfato.	16
Figura 2.7. Representação da estrutura química do tenofovir DF e do seu metabolito ativo, tenofovir trifosfato.....	17
Figura 2.8. Representação da estrutura química da emtricitabina e do seu metabolito ativo, a emtricitabina 5'-trifosfato.....	18
Figura 2.9. Representação da estrutura química da nevirapina.	22
Figura 2.10. Representação da estrutura química do efavirenz.	22
Figura 2.11. Representação da estrutura química da etravirina.....	23
Figura 2.12. Representação da estrutura química da rilpivirina.	24
Figura 2.13. Representação da estrutura química do saquinavir.....	27
Figura 2.14. Representação da estrutura química do indinavir.	28
Figura 2.15. Representação da estrutura química do ritonavir e do lopinavir.	29
Figura 2.16. Representação da estrutura química do atazanavir.	30
Figura 2.17. Representação da estrutura química do tipranavir.	30
Figura 2.18. Representação da estrutura química do darunavir.....	31
Figura 2.19. Representação da estrutura química do enfuvirtida.....	33
Figura 2.20. Representação da estrutura química do maraviroc.	34
Figura 3.1. Domínio NTD. As histidinas estão representadas a roxo, as cisteínas em encarnado e o átomo de zinco encontra-se a laranja	35
Figura 3.2. Domínio CCD. Os resíduos de ácido aspártico estão representados a amarelo, o ácido glutâmico não é visualizado nesta estrutura.	36
Figura 3.3. Domínio CTD.....	36
Figura 3.4. Enzima integrase na forma traméricaestabilizada por interações com as extremidades do DNA viral.....	37
Figura 3.5. Presença de LTR em ambas as extremidades do DNA viral.	38
Figura 4.1. Representação da estrutura química do raltegravir.	40
Figura 4.2. Representação da estrutura química do elvitegravir.	43
Figura 4.3. Representação da estrutura química do dolutegravir.	45
Figura 6.1. Representação da estrutura química do cabotegravir.	51
Figura 6.2. Representação da estrutura química do bictegravir.	52

Índice de Tabelas

Tabela 2.1. Resumo das características dos fármacos pertencentes à classe dos NRTI.	19
Tabela 2.2. Resumo das características dos fármacos pertencentes à classe dos NNRTI.	25
Tabela 2.3. Resumo das características dos fármacos pertencentes à classe dos IP.	32
Tabela 4.1. Resumo das características do raltegravir.	42
Tabela 4.2. Regime posológico recomendado de elvitegravir.	43
Tabela 4.3. Resumos das reações adversas associadas ao elvitegravir.	44
Tabela 4.4. Posologia para dolutegravir recomendada em pediatria.	46
Tabela 4.5. Resumo das características do dolutegravir.	46
Tabela 5.1. Regime terapêutica em doentes com infeção por VIH-1.	50
Tabela 5.2. Regimes terapêuticos em doentes com infeção por VIH-2.	50

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

Índice de Gráficos

Gráfico 1. Número de novos casos de infeção por VIH em Portugal, desde 1983..... 6

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

Lista de abreviaturas

ARV- Antirretrovirais

ATP- Adenosina trifosfato

CA- Cápside

CCD- Domínio do centro catalítico

CCR5- C-C recetor quimiocina tipo 5

CDC- Centro de Controlo e Prevenção de Doença

CTD- Domínio C-terminal

DGS- Direção Geral de Saúde

DNA- Ácido desoxirribonucleico, do inglês: *deoxyribonucleic acid*

Env- Proteína do envelope

FDA- *Food and Drug Administration*

HAART- Terapêutica Antirretroviral de Alta Eficácia, do inglês: *Highly Active Antiretroviral Therapy*

HTLV- Vírus linfotrópicos das células-T humanas, do inglês: *Human T lymphotropic virus*

ICTV- International Committee on Taxonomy of Viruses

IN- Integrase

INSA- Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP

InsTI- Inibidores da Transferência da Cadeia da Integrase, do inglês *Integrase strand-transfer inhibitors*

IP- Inibidores da Protease

LTR- Terminais Longos de Repetição

MA- Matriz

NC- Nucleocápside

NNRTI- Inibidores da Transcriptase Reversa dos Não Nucleosídicos, do inglês: *Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors*

NRTI- Inibidores de Transcriptase Reversa Nucleosídicos, do inglês: *Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors*

NTD- Domínio N-terminal

OMS- Organização Mundial de Saúde

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

Pol- Polimerase

PR- Protease

RNA- Ácido ribonucleico, do inglês: *ribonucleic acid*

SIDA- Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

TARV- Terapia antirretroviral

TR- Transcriptase reversa

UGT- Uridina difosfato glucoroniltransferase

VHB- Vírus da Hepatite B

VIH- Vírus da Imunodeficiência Humana

VIS- Vírus da Imunodeficiência Símia

1 Introdução

1.1 Nota histórica sobre o vírus da imunodeficiência humana

As doenças provocadas por vírus são conhecidas há muitos séculos. Todavia, as estratégias direcionadas para a prevenção e controlo de tais enfermidades só puderam ser desenvolvidas após ampla aceitação de que o causador das doenças infecciosas é um agente específico e não um miasma, como anteriormente considerado. A teoria do miasma pressupunha que as doenças se propagavam através do ar que provinha de matéria orgânica apodrecida na terra. Este entendimento explica as práticas de isolamento das pessoas portadoras de doenças infecciosas, por exemplo a lepra, que eram isolados para não contaminar o ar. [1], [2]

No ano de 1796 Edward Jenner desenvolveu a vacinação contra a varíola, demonstrando que, ao contrário do que se pensava, as doenças não eram causadas por fatores ambientais, mas por agentes microscópicos. Contudo, foi Louis Pasteur quem, no ano de 1885, iniciou a era da descoberta do vírus, o que culminou no desenvolvimento de uma vacina contra a raiva que atua através de um processo de atenuação do vírus. [1], [3]

A história da virologia e de infeções virais pode dividir-se em várias fases: a descoberta de vírus como seres distintos de outros agentes patogénicos, a associação entre certas doenças e os vírus, o desenvolvimento de métodos para isolamento e caracterização de vírus e, por último, o desenho e desenvolvimento de moléculas com atividade antiviral, e também de vacinas, para tratamento e profilaxia. [1], [3]

As epidemias de febre amarela, varíola e poliomielite foram praticamente extintas devido à utilização de estratégias de prevenção. Todavia, as doenças provocadas pelos vírus da imunodeficiência humana (VIH), das hepatites e da gripe representam atualmente ameaças significativas para a saúde pública. [1]

No ano de 1981 foi registada a morte de um número elevado de jovens do sexo masculino, provocada por infeções. Verificou-se que estas infeções foram fatais devido a falhas do sistema imunitário, pois as mesmas infeções em indivíduos saudáveis seriam totalmente inofensivas. Como se verificou que esta doença estava sobretudo associada à comunidade de homens que praticam sexo com homens, a condição adquiriu

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

inicialmente várias designações, como Síndrome de Comprometimento Homossexual, Deficiência Imunológica Relacionada com Homossexuais, Doença de Imunodeficiência Adquirida, cancro homossexual ou Disfunção Imunológica Adquirida na Comunidade. Posteriormente, o Centro de Controlo e Prevenção de Doença (CDC) atribuiu a este estado de imunossupressão a designação de Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA). [4]–[6]

Em 1983, no Instituto Pasteur, em França, Luc Montagnier e Françoise Barré-Sinoussi isolaram o vírus proveniente de um indivíduo com SIDA, tendo identificado um retrovírus pertencente à família dos vírus linfotrópicos das células-T humanas (do inglês, Human T lymphotropic vírus (HTLV)) que era distinto de todos os vírus isolados anteriormente. No ano seguinte, um grupo de investigadores americanos isolou um retrovírus semelhante, que foi posteriormente classificado como vírus da imunodeficiência humana do tipo-1 (VIH-1). O VIH tem como alvo o sistema imunológico, provocando o enfraquecimento do sistema de defesa dos indivíduos contra as infeções e tornando-os imunodeficientes. [7]–[10]

Na África Ocidental descobriu-se uma estirpe de vírus morfológicamente semelhante mas geneticamente distinta, que foi designada por vírus da imunodeficiência humana tipo 2 (VIH-2). Este vírus foi isolado em 1986, em indivíduos oriundos da Guiné-Bissau que se encontravam internados no Hospital Egas Moniz, em Lisboa. A colaboração de Maria Odette Santos-Ferreira com o Instituto Pasteur e o trabalho notável desta cientista nacional tornaram possível o isolamento e subsequente caracterização do vírus. Descobriu-se que o VIH-2 é proveniente de macacos da espécie *Cercocebus atys*. Foi registada uma maior taxa de prevalência na Guiné-Bissau entre os anos de 1960 e 1970, devido à época das guerras coloniais portuguesas, provocando a propagação do vírus. Atualmente, as taxas de VIH-2 estão em declínio na maioria dos países da África Ocidental, sendo este substituído pelo VIH-1. Verificou-se que em indivíduos infetados com o VIH-2 as cargas virais são mais baixas, o que explica a baixa transmissão interpessoal e a ausência de transmissão da mãe para o filho. Para além disso, a maioria dos indivíduos infetados não progride para a SIDA. [4], [5], [11]–[14]

Apesar de serem considerados lentivírus humanos, o VIH-1 e o VIH-2 não apresentam como hospedeiros naturais os seres humanos. O facto de os vírus não serem

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

patogênicos na população de origem (macacos verdes, chimpanzés, entre outros), indica que o VIH derivou da transmissão inter-espécies, sendo feita através de caçadores locais que, ao entrarem em contacto com o sangue do animal infetado, foram infetados pelo vírus. Evidências moleculares indicam que o ancestral mais plausível do VIH-1 e VIH-2 seja o vírus da imunodeficiência símia (VIS), infetando chimpanzés e *sooty mangabeys* (da espécie, *Cercocebus atys*), respetivamente. [4], [5], [11]

1.1.1 Taxonomia

De acordo com o International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV), o VIH pertence à ordem dos *Ortevirales*, família *Retroviridae*, subfamília *Orthoretrovirinae* e género *Lentivirus*. [15]

Os retrovírus são vírus que possuem como material genético o ácido ribonucleico (do inglês, ribonucleic acid (RNA)), utilizando a transcriptase reversa para converter o RNA em ácido desoxirribonucleico (do inglês, deoxyribonucleic acid (DNA)). Posteriormente o vírus é integrado no DNA celular, permitindo que o retrovírus se replique. [16]

1.1.2 Transmissão

O VIH pode encontrar-se nos diversos fluídos corporais dos indivíduos infetados, como por exemplo no sangue, no sémen, nas secreções vaginais e no leite materno. Assim, o vírus transmite-se através de relações sexuais não protegidas, através da transmissão vertical, ou seja, de mãe para filho, pela transfusão de sangue de uma pessoa infetada para uma sã e pela partilha de agulhas ou seringas contaminadas entre toxicódependentes. Em contrapartida, o VIH não é transmitido pelo ar, água, comida ou por fluidos como o suor, saliva ou urina, não podendo os indivíduos ser infetados através do simples contacto quotidiano, como beijar, abraçar, apertar as mãos ou partilhar a casa de banho. Deste modo, praticar sexo utilizando sempre o preservativo, limitar o número de parceiros sexuais e nunca partilhar agulhas são medidas que contrariam a transmissão do vírus. [10], [17]–[20]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

1.1.3 Sintomas

Os sintomas da infecção por VIH variam de acordo com a fase em que o vírus se encontra, e caso o doente esteja a fazer terapia antirretroviral (TARV) esta permite retardar ou impedir que este passe para uma fase associada a um estado mais grave. Nas primeiras semanas após a infecção, o quadro clínico do indivíduo caracteriza-se por sintomas característicos de uma gripe, como febre, dor de cabeça, dor de garganta e erupção cutânea. [10], [21]

Após as primeiras 2 a 4 semanas o vírus entra em latência clínica, isto é, continua ativo, mas reproduz-se mais lentamente. No período de latência clínica o indivíduo infetado pode não apresentar qualquer tipo de sintomas, podendo o vírus permanecer em latência durante anos, ou progredir rapidamente para a fase seguinte. No final desta fase, a carga viral começa a subir e a contagem dos linfócitos T CD4 começa a diminuir, chegando a uma contagem de linfócitos T CD4 inferior a 200 células/ μ L, o que corresponde a SIDA. Consequentemente, com o passar do tempo o corpo deixa de conseguir combater infeções e outras doenças. Sem recurso à TARV estima-se que a sobrevivência do indivíduo infetado seja, em média, de 3 anos, e nestes casos os sintomas incluem calafrios, febre, linfedemas, fraqueza e perda de peso. [10], [21]

1.1.4 Diagnóstico

É importante que todas as pessoas saibam se são portadores do VIH, conheçam o seu estado e possíveis consequências. O diagnóstico baseia-se na deteção de anticorpos produzidos pelo sistema imunológico do indivíduo, anti-VIH 1 e anti-VIH 2, e também através da presença do antigénio p24 no soro ou no plasma. Os testes serológicos devem ser efetuados em idades compreendidas entre os 18 e 64 anos e, como rotina, nas grávidas, dadores de sangue, utentes em diálise, dadores e recetores de órgãos transplantados e crianças nascidas de mães portadoras de VIH. [10], [22], [23]

Os métodos utilizando os anticorpos não devem ser usados nos lactentes e em bebés com menos de 18 meses, nascidos de mães portadoras de VIH, dado que a passagem de anticorpos maternos pela placenta no terceiro trimestre de gestação

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

interfere no diagnóstico serológico. Neste caso, para o diagnóstico precoce são mais adequados os métodos moleculares, que consistem na quantificação da carga viral. [22], [23]

1.2 Dados Epidemiológicos

O VIH permanece um problema grave de saúde pública. Dados da Organização Mundial de Saúde (OMS) indicam que o vírus matou aproximadamente 32 milhões de pessoas no mundo, até ao final de 2018. Nesse mesmo ano, a OMS reportou um total de 37,9 milhões de pessoas portadoras de VIH, das quais 770 mil resultaram em morte por causas relacionadas com a infeção. Surgiram cerca de 1,7 milhões de novos casos, dos quais 159 420 foram diagnosticados em países da Europa. [10], [24], [25]

A região africana é das mais afetadas pelo VIH, com 25,7 milhões de pessoas infetadas, o que representa mais de dois terços das infeções a nível mundial. Contudo, entre 2010 e 2018 registou-se uma queda de 38% no número de novos casos, nesta região. [10], [25]

A OMS definiu as chamadas “populações-chave”, grupos de indivíduos que se encontram com maior risco de infeção pelo vírus, independentemente do contexto geográfico. Inclui homens que praticam sexo com outros homens, transexuais, toxicodependentes que injetam drogas, pessoas internadas em estabelecimentos criminais e profissionais de saúde. Estima-se que, em 2018, 54% das novas infeções tiveram origem nestas populações. [10], [25]

A OMS estima que, mundialmente, apenas 79% dos indivíduos portadores de VIH conhecem a sua condição. De entre estes, 23,3 milhões receberam terapia antirretroviral. Entre 2000 e 2018 houve um decréscimo de 37% no número de novos indivíduos infetados com o VIH, tendo-se verificado também um decréscimo de cerca 45% das mortes relacionadas com vírus. Neste período foram salvas 13,6 milhões de vidas, através de programas profiláticos e da administração de terapêuticas antirretrovirais. Esta conquista foi resultado de grandes esforços e de programas nacionais focados na profilaxia e no tratamento de infeção por VIH. [10]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

Relativamente a Portugal, foram reportados 57 mil casos de infeção por VIH até ao final de 2017. Destes, 22 mil atingiram o estadio SIDA e 14.500 resultaram em óbitos. De acordo, com os dados do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, IP (INSA) foram notificados 886 novos casos de infeção por VIH no ano de 2017, como representado no gráfico 1. Foram participados 261 óbitos de indivíduos com infeção por VIH, dos quais 134 tinha o sistema imunitário debilitado. A taxa de diagnóstico apurada para esse ano foi de 8,6 casos por 100.000 habitantes, um valor que se situa acima da média da União Europeia (com uma taxa de 5,9 por 100.000 habitantes em 2016). O aumento de novos casos deve-se ao esforço colocado na promoção do diagnóstico, com um aumento significativo do número de testes efetuados. [17], [24], [26]

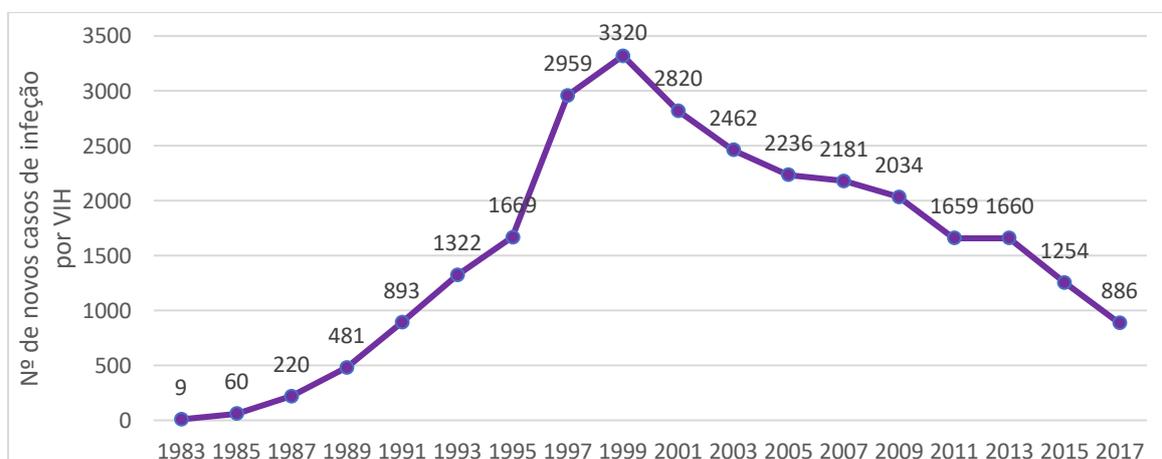


Gráfico 1. Número de novos casos de infeção por VIH em Portugal, desde 1983 (adaptado de [26]).

Segundo a Direção Geral de Saúde (DGS), estes diagnósticos ocorreram maioritariamente em homens (71,4%). Destes, 23,5% correspondem a indivíduos com idades compreendidas entre os 15 e 29 anos, 47,1% entre os 30 e 49 anos e 28,9% com idade igual ou superior a 50 anos. Cerca de 33,8% dos indivíduos diagnosticados com novas infeções por VIH em 2017 nasceram fora de Portugal. A transmissão é sobretudo resultante do contacto heterossexual (60,6%), seguida pela transmissão sexual entre homens (36,9%). A transmissão associada ao consumo de drogas por via injetável é indicada em apenas 1,5% dos casos, o que se deve ao programa troca de seringas “Diz não a uma seringa em segunda mão”. No âmbito deste programa foram distribuídas e trocadas cerca de 1 milhão seringas. [17], [24], [26]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

Relativamente ao tipo de VIH, em Portugal foram diagnosticados apenas 38 casos de infeções por VIH-2, em que 68,4% correspondem a casos de infeção em mulheres, todas elas nascidas na África subsariana, especificamente na Guiné-Bissau (55,3%). [26]

1.3 Estrutura do VIH

A partícula viral do VIH, dominada virião, quando se encontra fora da célula, e sem capacidade de se multiplicar, possui um diâmetro de 80-110 nm e um genoma composto por duas cadeias simples de RNA positivo. Normalmente, o virião possui apenas 1 capsídeo, contudo recentemente foram descritos viriões com dois ou mais capsídeos. Ao contrário da generalidade dos retrovírus conhecidos, o VIH possui o capsídeo em forma de cone, com um diâmetro de 40-60 nm na extremidade mais larga e 20 nm na extremidade mais estreita. [27]

O VIH possui 3 quadros de leitura que transcrevem as poliproteínas Gag, Pol e Env. A poliproteína Gag é processada em proteínas estruturais, como as proteínas da matriz (MA), da nucleocápside (NC) e da cápside (CA) composta pela p24. O processamento da polimerase (Pol) produz proteínas com atividade enzimática: a protease (PR), a integrase (IN) e a transcriptase reversa (TR), esta última é responsável pela transformação de cadeia simples de RNA viral em cadeia dupla de DNA. Por último, da proteína do envelope (Env) derivam a glicoproteína transmembranar (gp 41 ou TM) e a glicoproteína de superfície (gp 120 ou SU), ligadas uma à outra, como se pode observar na figura 1.1. [28]–[30]

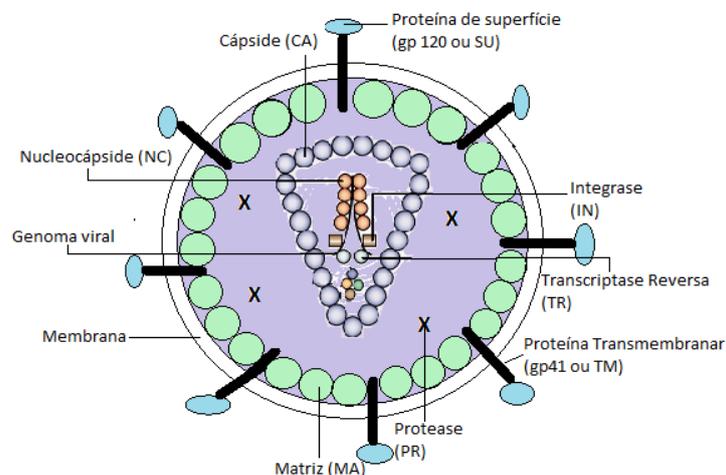


Figura 1.1. Representação da estrutura do VIH (adaptado de [29]).

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

1.4 Replicação do VIH

O VIH liga-se através da gp120 ao seu principal alvo nas células do hospedeiro, a glicoproteína CD4. Esta glicoproteína está presente em várias células, incluindo macrófagos e células T, sendo as células T CD4 o alvo primordial do vírus. A ligação entre as duas glicoproteínas e co-recetores faz com que a partícula viral se funda com a célula hospedeira, promovendo a entrada do material genético do vírus no citoplasma da célula. Além da entrada do RNA viral introduzem-se também na célula hospedeira várias proteínas essenciais à sobrevivência do vírus, entre elas a TR. Até à descoberta dos retrovírus, era um dogma que a transferência de informação ocorria na direção DNA para RNA. Assim, a descoberta de que alguns vírus realizem transcrição reversa representou uma revolução no conhecimento. [7], [31], [32]

A conversão do RNA viral em DNA viral permite que o vírus entre no núcleo da célula hospedeira e se integre com o material genético celular (DNA celular), num processo mediado pela enzima IN, denominando-se o DNA viral de provírus. De seguida o provírus pode ficar em estado de latência por tempo indeterminado, até iniciar a transcrição, utilizando a maquinaria da célula, a RNA polimerase. A transcrição vai produzir RNA mensageiro (mRNA), que através da tradução vai servir de molde para a produção de novas de proteínas virais essenciais à sobrevivência do retrovírus. [31]–[33]

Após a tradução, as proteínas virais deslocam-se até à superfície celular formando um vírus imaturo. Este torna-se maduro quando uma outra enzima viral, a protease, cliva as cadeias longas de proteínas em péptidos mais pequenos. Posteriormente sai da célula hospedeira levando consigo parte da superfície celular, que servirá de proteção até que seja revestida com glicoproteínas necessárias para a continuação de novos ciclos celulares. Esta nova partícula viral vai ligar-se a outros recetores CD4, infetando novas células. [31], [32]

A replicação constante deste retrovírus resulta numa estimativa de produção de mais de mil viriões por dia. À medida que a infeção progride o vírus consegue evoluir, pois produz novas variantes antigénicas que não são reconhecidas pelo sistema imunitário, colocando o vírus numa posição privilegiada no que toca a sua preservação e o contágio de outros indivíduos. [11], [27]

2 Terapêutica antirretroviral

Até 1996, a intervenção consistia na profilaxia e no tratamento de doenças relacionadas com a SIDA, havendo poucas opções de tratamento antirretroviral para a infeção por VIH. O desenvolvimento de TARV nas últimas 2 décadas reduziu a mortalidade associada a VIH em 80% nos países industrializados, aportando um aumento substancial da esperança média de vida e melhoria do prognóstico em doentes que vivem com o vírus. [34], [35]

Sendo a infeção por VIH uma doença crónica, em que não existe cura, a inibição da replicação viral é crucial para limitar quaisquer danos que o vírus possa causar, o que impõe um tratamento contínuo para manutenção/controlo da carga viral. A utilização desta terapêutica tem como objetivos promover a redução da mortalidade e morbilidade associadas ao vírus, preservar o estado de saúde do doente, o seu sistema imunitário e prevenir a transmissão. Deste modo, a terapêutica evoluiu para a administração de diversas combinações de agentes antirretrovirais (ARV), tendo como preferência fármacos de classes distintas, sendo esta a estratégia mais eficaz no controlo da replicação viral. Todavia, a utilização das combinações de agentes ARV no tratamento do VIH é por vezes prejudicada pelo desenvolvimento de resistências virais. [36]–[38]

De acordo com a Food and Drug Administration (FDA), autoridade responsável do medicamento nos Estados Unidos da América, existem 36 fármacos antirretrovirais aprovados, todos eles com efeitos secundários, incluindo o risco de aumentar a probabilidade de doenças cardiovasculares e disfunção renal. Os fatores associados ao estilo de vida, como o tipo de nutrição, o exercício físico e o controlo do tabagismo são especialmente importantes para os indivíduos infetados com VIH. Um dos problemas atuais é a fraca adesão à terapêutica, que pode resultar do abuso de drogas, do facto de o regime terapêutico poder variar de acordo com as fases da doença ou de o tratamento ser prolongado ao longo da vida. [34], [39], [40]

Existem atualmente, seis classes diferentes de ARV, classificadas de acordo com o alvo terapêutico, que atuam nas diferentes fases do ciclo replicativo do vírus: os Inibidores da Transcriptase Reversa Nucleosídicos (do inglês, Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NRTI)), os Inibidores da Transcriptase Reversa Não

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

Nucleosídicos (do inglês, Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTI)), os Inibidores da Protease (IP), os Inibidores da Fusão das membranas, os Inibidores dos co-receptores C-C recetor quimiocina tipo 5 (CCR5) e os Inibidores da Integrase, mais especificamente, inibidores da transferência da cadeia da integrase (do inglês, Integrase strand-transfer inhibitors (InSTI)). Estas classes, e alvos em que atuam, estão representados na figura 2.1. [39], [41]

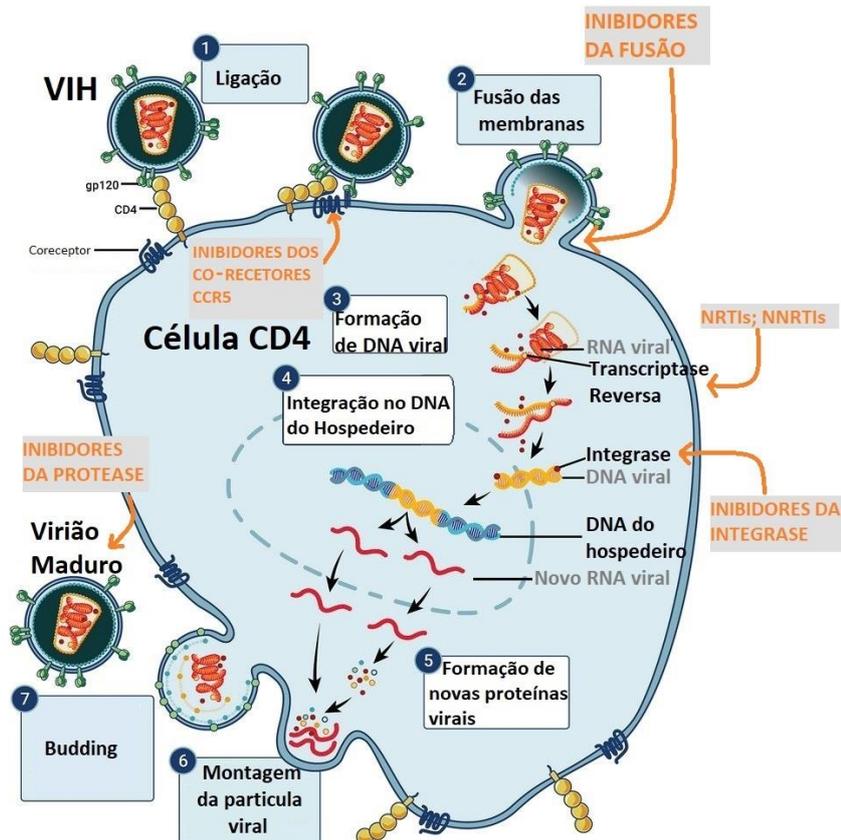


Figura 2.1. Representação dos alvos de ação dos fármacos usados na terapia antirretroviral (adaptado de [32]).

2.1 Inibidores da Transcriptase Reversa Nucleosídicos

A transcriptase reversa é uma enzima que apenas está presente no HIV, tendo como principal função transcrever o RNA viral em DNA de cadeia simples, e posteriormente em cadeia dupla. Esta enzima é essencial para a incorporação do DNA viral no genoma da célula hospedeira, sendo um alvo ideal para o desenvolvimento de fármacos ARV. Para ocorrer a incorporação é necessário o alongamento da cadeia, através da adição de nucleósidos de purina e pirimidina na extremidade 3' da cadeia de

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

DNA em crescimento. Os Inibidores da Transcriptase Reversa Nucleosídicos (NRTI) possuem uma estrutura semelhante às bases dos nucleósidos de DNA e vão integrar-se no genoma viral, terminando a formação dessa cadeia. Esta classe farmacológica exibe atividade contra o VIH-1 e o VIH-2. [42]–[44]

Os NRTI foram os primeiros agentes disponíveis para o tratamento do VIH. No ano de 1987 foi aprovado o primeiro fármaco NRTI para a TARV: a zidovudina. Existem atualmente 9 fármacos pertencentes a esta classe aprovados pela FDA: abacavir, didanosina, emtricitabina, lamivudina, estavudina, zidovudina, tenofovir disoproxil fumarato, tenofovir alafenamida e zalcitabina. Todavia, apenas os sete primeiros estão comercialmente disponíveis. Existem fármacos desta classe, como o tenofovir, a lamivudina e a emtricitabina, que são frequentemente incorporados em esquemas terapêuticos para doentes com co-infecção por VIH e por vírus da hepatite B (VHB). [42]–[45]

Estes fármacos não são ativos de *per se*. São pró-fármacos que dependem de enzimas celulares para a catalise de três fosforilações, essenciais para gerar a mímica de um nucleósido ativo. A eficácia dos NRTI é assim determinada pela capacidade de estes serem convertidos na sua forma ativa. No caso do tenofovir, a forma inativa possui a mímica de um grupo fosfato, só necessitando da adição de mais dois para se converter na forma farmacologicamente ativa, o que o torna mais eficaz na inibição da TR do VIH. [42]

Os efeitos adversos comuns nesta classe terapêutica incluem toxicidade mitocondrial, que pode originar pancreatite, esteatose hepática e acidose láctica, podendo esta gerar posteriormente uma acidose metabólica. Estes efeitos resultam da ligação dos NRTI à DNA polimerase mitocondrial humana, prejudicando a respiração celular, razão pela qual se deve minimizar o efeito dos fármacos nas DNA polimerase celulares. [42]–[44]

2.1.1 Zidovudina

A zidovudina foi sintetizada em 1964 para o tratamento de neoplasias, não tendo no entanto granjeado sucesso nesta utilização. A 19 de março de 1987 o fármaco foi

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

aprovado pela FDA para o tratamento de infecções por VIH em adultos e crianças, para prevenir a transmissão de mãe para filho e para profilaxia de pós-exposição em profissionais de saúde expostos ao vírus. Este fármaco é um análogo da timidina e a sua estrutura está representada na figura 2.2. Relativamente ao mecanismo de ativação e de ação, o fármaco sofre três fosforilações no citoplasma celular, mediadas por uma timidina cinase. A sua forma trifosfatada possui um tempo de semi-vida de três horas e age como um inibidor competitivo do trifosfato de timidina. É de enfatizar que este fármaco provoca a interrupção prematura do crescimento da cadeia de DNA viral, porque o seu grupo 3'-azido, assinalado a vermelho na figura 2.2, impede a formação da ligação 5'-3' fosfodiéster. Por outro lado, a forma monofosfatada da zidovudina inibe competitivamente a timidilato cinase celular, causando a diminuição dos níveis de trifosfato de timidina e consequentemente a inibição do crescimento da cadeia viral. [35], [46], [47]

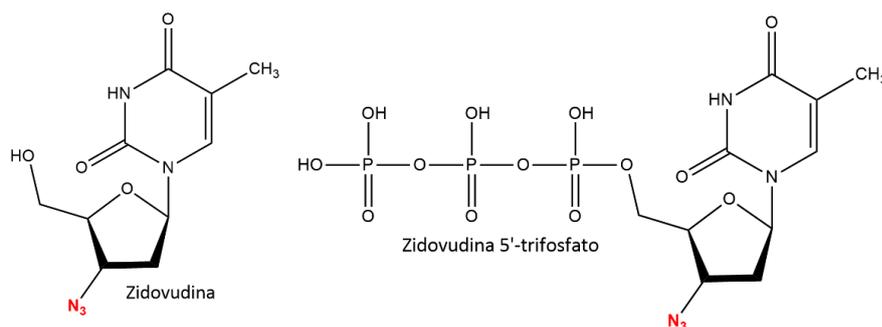


Figura 2.2. Representação da estrutura química da zidovudina e do seu metabolito ativo, a zidovudina 5'-trifosfato.

A posologia recomenda de zidovudina é de 300 mg, duas vezes por dia, ou então 200 mg, de 8 em 8 horas, nunca excedendo a dose diária de 600 mg. A zidovudina pode ser administrada com ou sem alimentos e é metabolizada por glucuronidação. Contudo, cerca de 25% é eliminada na forma inalterada, na urina, e no caso de insuficiência renal é necessário ajuste de dose. Relativamente aos efeitos adversos, o principal é a mielotoxicidade, particularmente a anemia, um efeito reversível após a retirada do fármaco, e a lipoatrofia, sendo esta muito difícil de corrigir. Surgem outras manifestações menos frequentes de toxicidade mitocondrial, como a miopatia e a cardiopatia. [46], [48]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

2.1.2 Didanosina

A didanosina é um fármaco análogo da adenosina, aprovado pela FDA a 9 de outubro de 1991 e é utilizado para o tratamento da infecção com VIH-1 e VIH-2 em adultos e crianças. A didanosina sofre fosforilações catalisadas por enzimas celulares formando o seu metabolito ativo, o 5'-trifosfato de dideoxiadenosina (ddATP), cujas estruturas estão representadas na figura 2.3. Este, por sua vez, atua de duas maneiras: inibe de forma competitiva a TR em relação ao trifosfato desoxiadenosina (dATP) e interrompe a síntese da cadeia de DNA viral, porque é incorporado pela TR no DNA do vírus e, não possuindo um grupo 3'-hidroxilo, termina a cadeia em crescimento, inibindo a replicação viral. Este fármaco apresenta seletividade para o vírus, pois tem uma maior afinidade pela transcriptase reversa do que pelas DNA polimerases celulares. [47], [49]

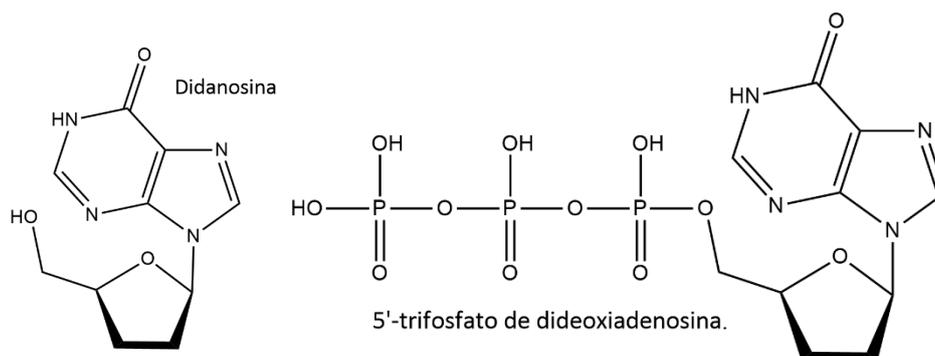


Figura 2.3. Representação da estrutura química da didanosina e do seu metabolito ativo, o 5'-trifosfato de dideoxiadenosina.

A posologia recomendada de didanosina, em adultos com peso corporal inferior a 60 kg, é de 250 mg, uma vez por dia, ou então 125 mg, duas vezes por dia, de 12 em 12 horas. Em adultos com peso igual ou superior a 60 kg a posologia recomendada é de 400 mg, uma vez por dia, ou então 200 mg, de 12 em 12 horas. A didanosina é metabolizada no fígado e excretada na urina. Este fármaco possui um tempo de semi-vida de 1 hora e 30 minutos em adultos e de 48 minutos em crianças. A administração concomitante com alimentos pode diminuir a absorção do fármaco em 50%. Como efeitos adversos mais graves podem surgir a neuropatia periférica e a pancreatite, ambas associadas a doses elevadas de fármaco (mais de 750 mg por dia) e desenvolvendo-se nos primeiros 3 a 6 meses de tratamento. [50], [51]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

2.1.3 Estavudina

A estavudina é um análogo do nucleósido timidina, aprovado pela FDA para o tratamento da infecção com VIH-1 e VIH-2 a 24 de junho de 1994. Nos estudos iniciais, em monoterapia, a estavudina reduziu entre 70 e 90% os níveis plasmáticos de RNA viral, tendo-se observado a diminuição da progressão da doença. [47], [52]

Como os outros NRTI anteriormente apresentados, a estavudina é convertida no interior da célula no seu metabolito ativo, a estavudina 5'-trifosfato, cuja estrutura se encontra representada na figura 2.4. O metabolito ativo atua como inibidor competitivo da TR em relação à desoxicitidina-5'-trifosfato. Este nucleótido fica impedido de se ligar, provocando a terminação prematura da cadeia. Uma vez que o fármaco não possui o grupo 3'-hidroxilo encontrado na timidina, deixa de haver a possibilidade de formar ligações fosfodiéster. [47], [49], [53]

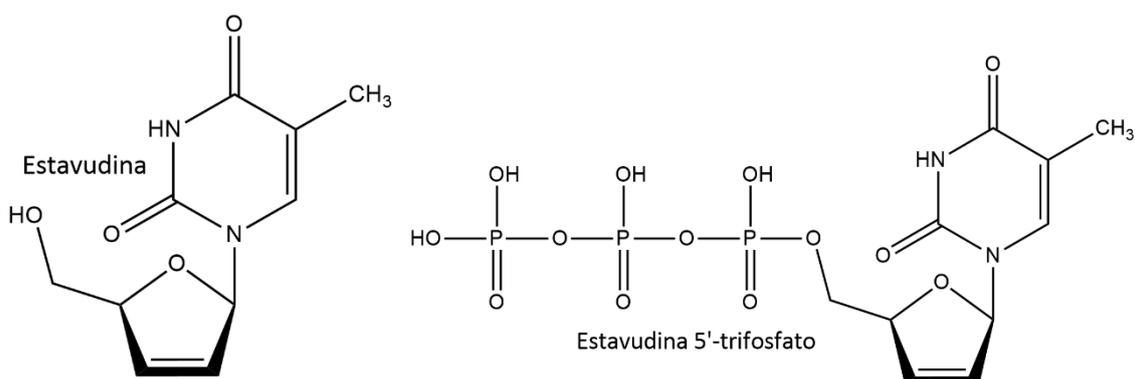


Figura 2.4. Representação da estrutura química da estavudina e do seu metabolito ativo, a estavudina 5'-trifosfato.

A estavudina é facilmente absorvida, conseguindo atingir numa hora as concentrações plasmáticas máximas. A sua biodisponibilidade não é afetada pelos alimentos, mas em doentes com peso corporal inferior a 60 kg as concentrações plasmáticas do fármaco são maiores, sendo necessário reduzir a dose para 30 mg, duas vezes ao dia. No caso de adultos com massa corporal igual ou superior a 60 kg a dose recomendada é de 40 mg, duas vezes por dia. O efeito adverso mais grave associado à estavudina é a neuropatia periférica, podendo ser revertida com a suspensão do fármaco ou com a redução da dose. Neste caso, é aconselhado uma diminuição da dose para 20 mg, duas vezes ao dia, com o objetivo de reduzir este efeito tóxico associado. Alguns estudos mostraram melhorias significativas em doentes utilizando estavudina que já haviam recebido zidovudina. [47], [49]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

2.1.4 Lamivudina

A lamivudina é um análogo da citosina e tem a capacidade de inibir a TR do VIH-1, VIH-2 e a DNA polimerase do vírus da hepatite B (VHB). Estudos iniciais mostraram que, com a utilização do fármaco em monoterapia, as concentrações de RNA do VIH-1 diminuíram até 90% em 14 dias. Todavia, rapidamente surgiram resistências à lamivudina. Foram escolhidos doentes *randomizados* que utilizaram a combinação de lamivudina e zidovudina, observando-se uma redução substancial dos níveis de RNA viral e um aumento das contagens dos linfócitos CD4, em comparação com doentes que apenas receberam zidovudina. [47], [48]

A lamivudina sofre três fosforilações catalisadas por diferentes cinases após a entrada na célula, formando o fármaco lamivudina 5'-trifosfato, cuja estrutura se encontra representada na figura 2.5. O metabolito ativo atua como inibidor da TR, provocando a terminação da cadeia de DNA viral. Este fármaco apresenta baixa afinidade por DNA polimerases humanas, o que explica a baixa toxicidade para o hospedeiro. [47], [49]

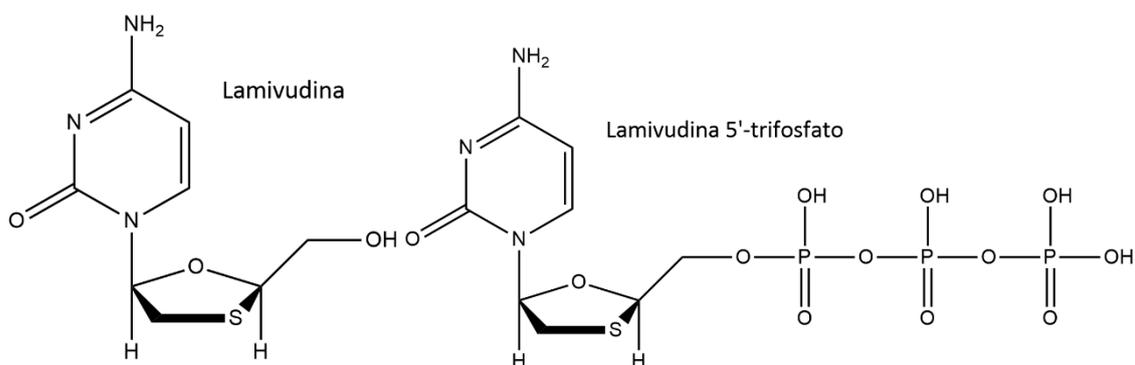


Figura 2.5. Representação da estrutura química da lamivudina e do seu metabolito ativo, a lamivudina 5'-trifosfato.

A lamivudina possui uma biodisponibilidade de 86% e esta não se altera com ingestão concomitante de alimentos. Como possui um tempo de semi-vida longo (17 a 19 horas), apenas é necessária uma administração diária. É excretada de forma inalterada pela urina e a dose deve ser ajustada em doentes com insuficiência renal. Em doentes adultos infetados com VIH pode ser usada uma dose diária de 300 mg, ou então 150 mg, duas vezes por dia, com um intervalo de 12 horas entre as duas tomas. A monoterapia é, porém, inapropriada para o tratamento da infeção por VIH. Para o tratamento do VHB é usada uma dose diária de 100 mg. Em crianças, a lamivudina é

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

indicado para o tratamento da infecção por VIH, mas em combinação com outros agentes ARV. Para o tratamento de infeções por VHB em crianças com idade igual ou superior a 2 anos, a dose recomendada é de 3mg/kg por dia, nunca devendo exceder os 100 mg por dia. A segurança e eficácia deste fármaco em doentes co-infetados com VHB e VIH não foi estabelecida. Nas doses utilizadas, a lamivudina é bem tolerada, apresentando, contudo, alguns efeitos adversos: tosse, diarreia, cefaleias, febre e mal-estar. [47], [48], [54], [55]

2.1.5 Abacavir

Aprovado a 17 de dezembro de 1998 pela FDA, o abacavir é considerado um dos fármacos com maior eficácia, de entre os fármacos da classe dos NRTI. Em estudos iniciais, o abacavir evidenciou uma capacidade de redução das concentrações de RNA viral até 300 vezes superior à exibida por outros fármacos da mesma classe terapêutica, observando-se um aumento correspondente no número de linfócitos CD4. O abacavir possui uma boa atividade inibitória contra ambas as estirpes, VIH-1 e VIH-2. [47], [48]

Em relação ao mecanismo de ação, o abacavir, cuja estrutura está representada na figura 2.6, é o único NRTI que, quando ativo, mimetiza o trifosfato de guanosina. É fosforilado por enzimas intracelulares, formando o carbovir 5'-trifosfato, que inibe de forma competitiva a TR do VIH, terminando a formação da nova cadeia de DNA viral. O metabolito ativo é mais seletivo para a transcriptase reversa do que para as DNA polimerases humanas. [47], [49]

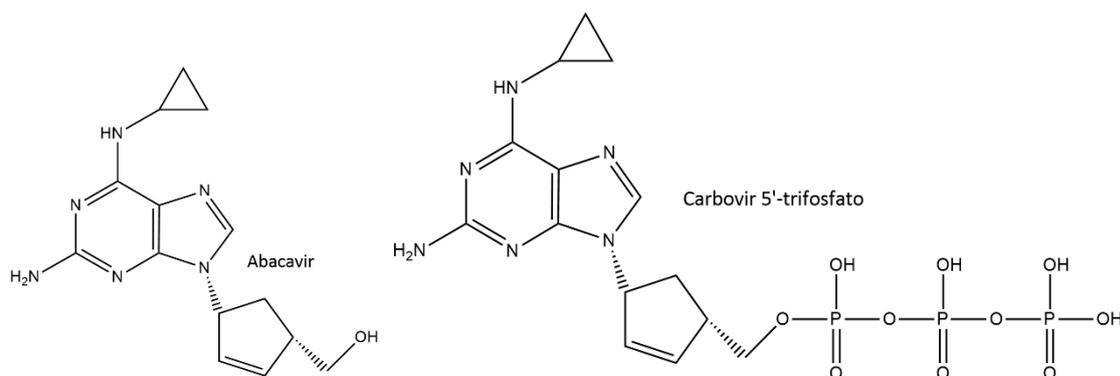


Figura 2.6. Representação da estrutura química do abacavir e do seu metabolito ativo, o carbovir 5'-trifosfato.

O abacavir possui um tempo de semi-vida de 2 horas. Em indivíduos adultos infetados com VIH aconselha-se uma posologia de 300 mg, duas vezes por dia, de 12 em

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

12 horas, em combinação com outros agentes antirretrovirais, ou 600 mg, uma vez por dia. Em caso de crianças entre os 3 meses e os 16 anos é recomendada a dose de 8mg/kg, de 12 em 12 horas, ou 16mg/kg por dia, nunca excedendo os 600 mg de abacavir por dia. [47], [56]

O abacavir possui uma biodisponibilidade oral superior a 80%, independentemente da toma concomitante com alimentos. O efeito adverso mais frequente, associado ao abacavir, é a reação de hipersensibilidade, caracterizado por febre, dor abdominal, problemas gastrointestinais, mal-estar e fadiga. [47], [56]

2.1.6 Tenofovir Disoproxil Fumarato

O tenofovir disoproxil fumarato é o fármaco pertencente à classe dos NRTI mais utilizado na prática clínica. Foi aprovado a 26 de outubro de 2001 pela FDA, para o tratamento da infeção pelo VIH e pelo VHB em doentes adultos, em combinação com outros antirretrovirais, sendo a escolha clínica para o tratamento de doentes co-infetados. É administrado na forma de pró-fármaco e incorpora na estrutura a mimica de um grupo fosfato. O tenofovir disoproxil fumarato é hidrolisado e posteriormente fosforilado por cinases celulares, formando o metabolito ativo, o tenofovir trifosfato, cuja estrutura se representa na figura 2.7. Este é um inibidor competitivo da TR viral que mimetiza a desoxiadenosina 5'-trifosfato. O metabolito ativo tem um anel de ribose incompleto, pelo que ao incorporar-se no DNA viral provoca a terminação da cadeia. [47]–[49]

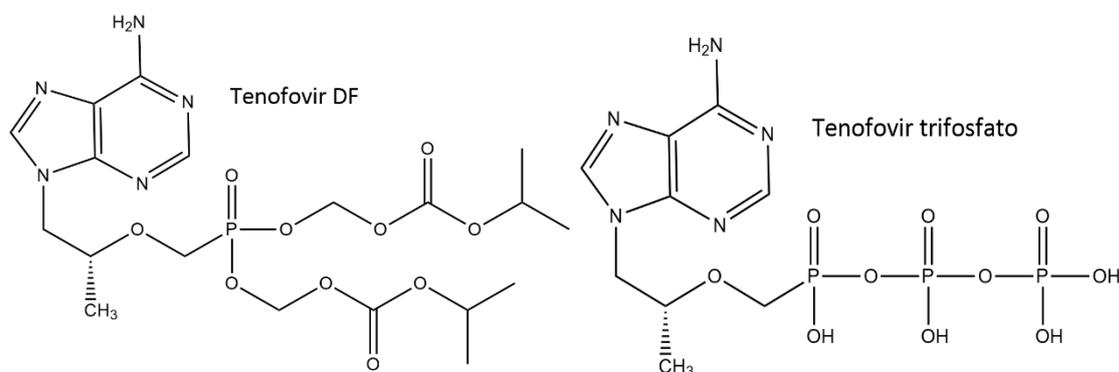


Figura 2.7. Representação da estrutura química do tenofovir DF e do seu metabolito ativo, tenofovir trifosfato.

O tenofovir apresenta uma biodisponibilidade de 25% quando o doente tem o estômago vazio e de 40% quando tem o estômago cheio, ou seja, é aconselhada a

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

administração do fármaco com alimentos para melhorar a sua biodisponibilidade. O tenofovir DF possui um tempo de semi-vida de 30 horas, o que possibilita uma única toma diária. É indicado para o tratamento de infecções por VIH, em combinação com outros fármacos antirretrovirais, numa dose de 300 mg por dia, sendo a mesma dose indicada para o tratamento de infeção por hepatite B. Cerca de 70% do fármaco é excretado de forma inalterado na urina. O tenofovir DF é bem tolerado e tem poucos efeitos adversos associados, sendo a flatulência e a diarreia os mais comuns. [47], [57]

2.1.7 Emtricitabina

A emtricitabina foi aprovada a 2 de julho de 2003 pela FDA para o tratamento da infeção por VIH em adultos, em combinação com outros agentes ARV. A emtricitabina é um análogo da citosina quimicamente semelhante à lamivudina, exibindo propriedades farmacodinâmicas semelhantes às deste fármaco. [47], [58]

A emtricitabina é fosforilada por cinases celulares, como por exemplo a desoxicitidina cinase, convertendo-se no seu metabolito ativo, a emtricitabina 5'-trifosfato, cuja estrutura está representada na figura 2.8. A sua forma trifosfatada compete com a desoxicitadina 5'-trifosfato, inibindo a TR e sendo incorporada no DNA viral, o que conduz a terminação da cadeia. Como a lamivudina, a emtricitabina possui uma baixa afinidade para DNA polimerases humanas, o que explica a sua baixa toxicidade. [47], [49], [58]

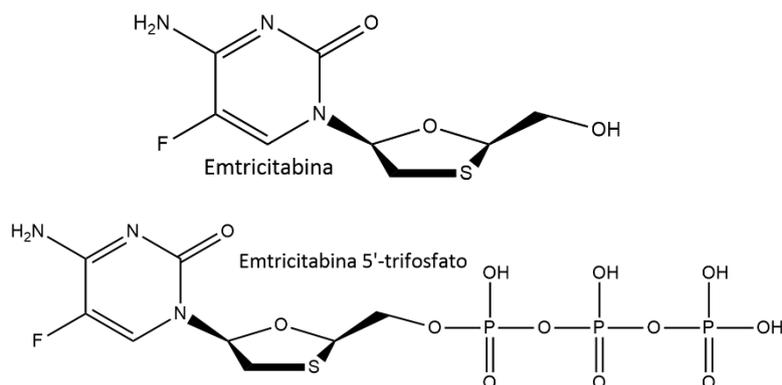


Figura 2.8. Representação da estrutura química da emtricitabina e do seu metabolito ativo, a emtricitabina 5'-trifosfato.

Este fármaco é absorvido muito rapidamente e possui uma biodisponibilidade oral de 93%. O tempo de semi-vida é muito longo, cerca de 39 horas, o que possibilita

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

uma única dosagem diária. Para o tratamento da infecção por VIH, a dose recomendada é de 200 mg, uma vez por dia, em cápsulas, ou 240 mg, uma vez por dia, no caso da solução oral. Este fármaco é excretado, maioritariamente, na urina. A emtricitabina é tida como um dos fármacos antirretrovirais menos tóxicos, pois possui poucos efeitos adversos e não afeta o DNA mitocondrial. Todavia, foi observada hiper-pigmentação da pele em áreas expostas ao sol. [47], [58], [59]

2.1.8 Resumo da informação terapêutica relativa aos NRTI

Na tabela 2.1, encontra-se o resumo das características dos fármacos utilizados no tratamento do VIH, pertencentes à classe dos NRTI. Nesta estão reunidas informações clinicamente relevantes, como a dose recomendada de cada fármaco, os efeitos adversos e as precauções a ter aquando da administração.

Tabela 2.1. Resumo das características dos fármacos pertencentes à classe dos NRTI.

	Dose Recomendada	Efeitos adversos	Precauções
ZIDOVUDINA [46]	300 mg, de 12/12horas OU 200 mg, de 8/8horas.	Anemia; Anorexia; Diarreia; Granulocitopenia.	Não administrar com fármacos mielossuppressores. Maior eficácia quando utilizado em conjunto com outros fármacos antirretrovirais.
DIDANOSINA [50]	<60 kg: 250 mg/dia ou 125 mg, de 12/12horas OU ≥60 kg: 400 mg/dia ou 200 mg, de 12/12horas.	Neuropatia; Pancreatite; Diarreia.	Não administrar com alimentos.
ESTAVUDINA [53]	<60 kg: 30 mg, de 12/12 horas OU ≥60 kg: 40 mg, de 12/12horas.	Neuropatia periférica; Cefaleias; Febre	Ter em conta o peso corporal. Pode-se tomar com alimentos. Não administrar com elvitegravir/cobicistate/emtricitabina/ tenofovir.
LAMIVUDINA [54]	300 mg/dia OU	Tosse; Diarreia;	Não administrar com emtricitabina.

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

	15 mg, de 12/12horas.	Cefaleias.	Utilizado como antivírico contra a hepatite B.
ABACAVIR [60]	600 mg/dia OU 300 mg, de 12/12horas.	Reações de hipersensibilidade e (febre, dor abdominal, mal-estar)	Não administrar com elvitegravir/cobicistate/emtricitabina/ tenofovir.
TENOFOVIR DF [61]	300 mg/dia.	Flatulência; Diarreia; Náuseas; Vômitos	Não administrar com didanosina.
EMTRICITABINA [62]	<u>Cápsulas:</u> 200 mg/dia. <u>Sol. Oral:</u> 240 mg/dia.	Híper-pigmentação cutânea; Diarreia; Tonturas; Cefaleias.	Não administrar com lamivudina.

2.1.9 Seleção para resistências aos NRTI

O desenvolvimento de resistências aos NRTI pode ocorrer através de processos que comprometem dois mecanismos: incorporação do fármaco na cadeia de DNA viral; remoção do fármaco da cadeia de DNA viral. A seleção para resistências aos diferentes fármacos normalmente ocorre de uma forma gradual e envolve a acumulação de várias mutações para que a resistência consiga desenvolver-se e persistir. Uma exceção é a mutação M184V, uma alteração da metionina pela valina no aminoácido da posição 184 que confere resistência simultânea à lamivudina e à emtricitabina. [47], [63]

As mutações identificadas que inibem seletivamente a incorporação do fármaco na cadeia de DNA viral são a M184V, a Q151M (alteração de glutamina para metionina) e a K65R (alteração de lisina para arginina). Há mutações associadas à resistência à zidovudina, isto é, mutações ao análogo da timidina, que são: Met41Leu, Asp67Asn, Lys70Arg, Leu210Trp, Thr215Tyr, Lys219Gln e Lys219Glu. Estas mutações removem os NRTI da cadeia de DNA através da mudança conformacional da TR, permitindo a adição da adenosina trifosfato (ATP). A quebra da ligação entre a cadeia de DNA viral e o fármaco garante o alongamento contínuo, com formação da cadeia de DNA. [47], [63]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

2.2 Inibidores da Transcriptase Reversa Não Nucleosídicos

Os Inibidores da Transcriptase Reversa Não Nucleosídicos (NNRTI) são moléculas hidrofóbicas que se ligam diretamente a uma bolsa também hidrofóbica pertencente à subunidade p66 da TR do VIH-1. Esta ligação promove uma mudança conformacional na estrutura da enzima. Assim, os NNRTI atuam como inibidores não competitivos, uma vez que o local de ligação do fármaco é diferente do local de ligação do substrato. Contrariamente aos NRTI, esta classe terapêutica não necessita de fosforilações para adquirir atividade farmacológica. [35], [43], [44]

Foram aprovados pela FDA cinco fármacos da classe dos NNRTI: delavirdina, efavirenz, nevirapina, etravirina e rilpivarina, este último aprovado mais recentemente. Foi verificado que estes fármacos têm atividade antirretroviral contra o VIH-1, mas não produzem resultados no tratamento de doentes infetados pelo VIH-2 ou por outros retrovírus. Uma das maiores desvantagens desta classe farmacológica é a possível interação com outros fármacos, pois são metabolizados pelo fígado, podendo ser inibidores do CYP3A4, como é o caso da delavirdina e do efavirenz, ou indutores, como a nevirapina. [48], [64], [65]

Contudo, em comparação com os NRTI, esta classe terapêutica mostrou uma maior seletividade para a TR do VIH-1 do que para as polimerases humanas, resultando em menor toxicidade e menos efeitos adversos. Apesar de surgirem rapidamente resistências quando estes fármacos são administrados em monoterapia, essas resistências são retardadas quando são administrados em combinação com os NRTI e/ou outros ARV, desde o início do tratamento. [48], [65]

2.2.1 Nevirapina

A nevirapina, aprovada pela FDA a 21 de junho de 1996, é indicada no tratamento da infeção pelo VIH-1 em adultos e crianças, em combinação com outros fármacos antirretrovirais. Este fármaco, cuja estrutura está representada na figura 2.9, pode ser utilizado com o objetivo de evitar a transmissão do vírus de mãe para filho, pois observou-se a redução da infeção neonatal com apenas uma administração de nevirapina, na grávida e no recém-nascido. Trata-se de um inibidor não competitivo que

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

se liga a um local específico da TR, promovendo uma alteração da conformação desta e assim interrompendo a atividade catalítica da enzima. [66]

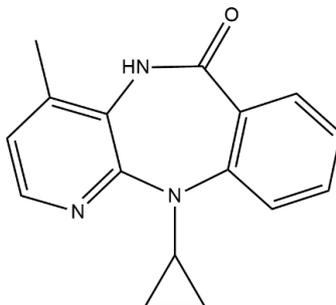


Figura 2.9. Representação da estrutura química da nevirapina.

A nevirapina apresenta uma elevada biodisponibilidade pelo facto de ser rapidamente absorvida, e um tempo de semi-vida de 25 horas. É aconselhada inicialmente a administração de uma dose diária de 200 mg durante 14 dias e, caso não apareça nenhum efeito adverso, a dose poderá ser aumentada para 200 mg, duas vezes por dia. Os efeitos adversos da nevirapina não são particularmente agressivos, sendo o mais comum a erupção cutânea, um efeito que na maioria dos indivíduos acaba por desaparecer com a continuidade do tratamento. [49], [66]

2.2.2 Efavirenz

O efavirenz, cuja estrutura está representada na figura 2.10, inibe de forma não competitiva a TR e promove a alteração conformacional desta, comprometendo a sua atividade catalítica. Apresenta uma elevada atividade terapêutica em indivíduos infetados por VIH-1. Este fármaco não possui atividade inibitória contra o VIH-2, como é característico nesta classe. [67]

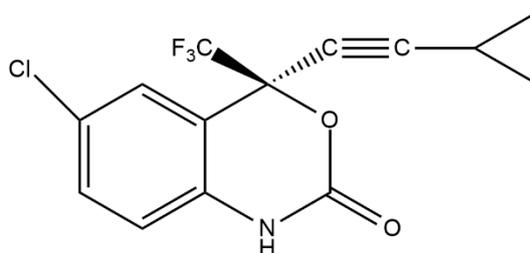


Figura 2.10. Representação da estrutura química do efavirenz.

O efavirenz, aprovado pela FDA a 17 de setembro de 1998, é facilmente absorvido, apresentando um pico de absorção plasmática ao fim de 5 horas. Sabe-se

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

que o efavirenz tem um tempo de semi-vida de 40 a 55 horas, o que possibilita uma única toma diária de 600 mg. Observou-se que os efeitos adversos do efavirenz envolvem o sistema nervoso central. Foram reportados episódios de depressão e alucinação, que acabam por desaparecer ao fim de 4 semanas após a interrupção do tratamento. Outros efeitos adversos estão relacionados com erupções cutâneas e observam-se principalmente no início do tratamento. [48], [67]

O uso de efavirenz é recorrente em esquemas terapêuticos para doentes que nunca tenham utilizado fármacos antirretrovirais, pois o fármaco é geralmente bem tolerado, possuindo elevada potência e eficácia. A combinação deste fármaco ou da nevirapina com outros fármacos antirretrovirais promove, a longo prazo, a diminuição da viremia e o aumento na contagem das células CD4. [67], [68]

2.2.3 Etravirina

A etravirina, cuja estrutura está representada na figura 2.11, é um fármaco que difere dos restantes NNRTI na capacidade de se ligar à TR, pois trata-se de uma molécula flexível, capaz de rodar no local de ligação e permitindo deste modo múltiplas conformações de ligação. Esta adaptabilidade retarda o desenvolvimento de resistências ao fármaco. [35], [68]

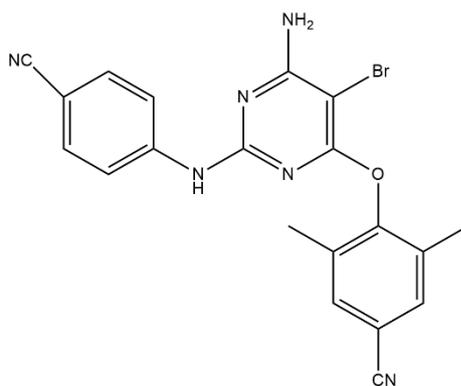


Figura 2.11. Representação da estrutura química da etravirina.

Aprovado pela FDA a 18 de janeiro de 2008, este fármaco é indicado no tratamento de infeções pelo VIH-1, em combinação com dois ou mais fármacos antirretrovirais, em doentes que já tenham iniciado alguma terapêutica ou que possuam resistência aos restantes NNRTI. A posologia recomendada para este fármaco é de 200 mg, de 12 em 12 horas. É necessária precaução quando se tem de administrar outros

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

fármacos, pois a etravirina é indutora do CYP3A4 e inibidora do CYP2C9 e do CYP2C19, podendo alterar a eficácia ou a toxicidade de fármacos que terão de ser co-administrados ao doente. [69], [70]

Em relação aos efeitos adversos, o mais frequente são erupções cutâneas, desde leves até muito graves, um efeito colateral observado em 17% dos doentes a tomar etravirina. Um estudo recente demonstrou que a toma do fármaco em jejum diminuiu em 50% a absorção, sendo assim necessário tomar a etravirina após a refeição. [70]

2.2.4 Rilpivirina

A rilpivirina, cuja estrutura se encontra representada na figura 2.12, é o último fármaco desta classe terapêutica, tendo sido aprovado pela FDA a 20 de maio de 2011. Está indicado para administração em combinação com outros agentes antirretrovirais no tratamento de infeções pelo VIH-1, em doentes sem qualquer tipo de tratamento prévio. [71], [72]

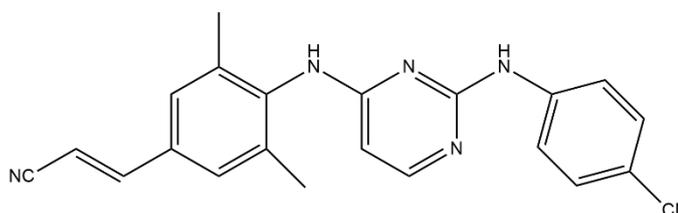


Figura 2.12. Representação da estrutura química da rilpivirina.

A posologia recomenda deste fármaco é 25 mg diários, pois apresenta um tempo de semi-vida de 50 horas, tornando suficiente uma única toma diária. É importante referir que a administração concomitante com antiácidos, devido ao aumento do pH gástrico, provoca a diminuição da absorção da rilpivirina e consequentemente a redução das suas concentrações no plasma. Assim, os antiácidos devem ser tomados 2 horas antes, ou 4 horas após a toma de rilpivirina. [72]

2.2.5 Resumo da informação terapêutica relativa aos NNRTI

Na tabela 2.2 apresenta-se o resumo das características clínicas dos fármacos utilizados no tratamento do VIH, pertencentes à classe dos NNRTI. Nesta tabela estão

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

reunidas informações clinicamente relevantes, como a dose recomendada de cada fármaco, os efeitos adversos e as precauções a ter aquando da administração.

Tabela 2.2. Resumo das características dos fármacos pertencentes à classe dos NNRTI.

	Dose Recomendada	Efeitos adversos	Precauções
NEVIRAPINA [73]	200mg/dia → durante 14 dias, pode aumentar para 200mg, de 12/12horas.	Erupção cutânea; Diarreia; Cefaleias.	Não administrar em monoterapia. Pode ser tomado com ou sem comida.
EFAVIRENZ [74]	600 mg/dia.	Erupção cutânea; Problemas psiquiátricos; Aumento do colesterol.	Não administrar em monoterapia.
ETRAVIRINA [75]	200 mg, de 12/12horas.	Erupção cutânea; Náuseas; Aumento do LDL.	Não administrar em monoterapia ou com outros fármacos da mesma classe. Não administrar em jejum.
RILPIVIRINA [76]	25 mg/dia.	Transtornos depressivos; Insónia; Erupção cutânea.	Não administrar em jejum. Contraindicado em toma concomitante com antiácidos.

2.2.6 Seleção para resistências aos NNRTI

Atualmente sabe-se que os NNRTI são mais suscetíveis ao desenvolvimento de resistências que os NRTI, podendo ocorrer seleção para resistências e recaída virológica, em poucos dias ou semanas, se os fármacos forem administrados em monoterapia. As resistências devem-se ao facto de, para alguns dos fármacos, por exemplo a nevirapina, ser apenas necessário a troca de um aminoácido na bolsa de ligação para tornar o vírus resistente, e noutros NNRTI, que requerem duas mutações para a perda de atividade, a mesma mutação pode acelerar a perda de eficácia terapêutica. No caso da nevirapina,

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

apenas uma toma em monoterapia resulta em resistência em um terço dos doentes. Todavia, o fármaco é muito potente e eficaz quando administrado com pelo menos dois antirretrovirais de classes terapêuticas diferentes. [68]

Os NNRTI de primeira geração (nevirapina, delavirdina e efavirenz) possuem padrões de resistência muito semelhantes, pelo que uma mutação no local de ligação faz diminuir a capacidade de os fármacos se ligarem, conseqüentemente diminuindo significativamente as suas atividades. Pelo contrário, a etravirina e a rilpivarina, NNRTI de segunda geração, apresentam perfis de resistência mais exclusivos. [68], [77]

2.3 Inibidores da Protease

A protease viral é uma enzima composta por 99 aminoácidos que é responsável pela clivagem de polipéptidos formando macromoléculas essenciais para a replicação do vírus, como é o caso das componentes enzimáticas (TR, PR e IN). Os IP são fármacos que mimetizam os péptidos, na componente destes que interage com o sítio ativo. Os IP atuam como inibidores competitivos, impedindo a clivagem dos polipéptidos nas células infetadas. Assim, inibem a maturação e bloqueiam a replicação viral. Os IP utilizados clinicamente são: atazanavir, lopinavir/ritonavir, indinavir, saquinavir e tipranavir, darunavir e fosamprenavir. [43], [44], [78]

Esta classe promove a longo prazo a diminuição da carga viral, o aumento da contagem de linfócitos CD4 e a redução da progressão da doença, melhorando a taxa de sobrevivência quando combinados com outros medicamentos antirretrovirais. Os IP possuem atividade terapêutica para o VIH-1 e para o VIH-2. Apesar de os vários IP possuírem mecanismos de ação semelhantes, apresentam grandes diferenças a nível da farmacocinética, eficácia e efeitos adversos. [78]

2.3.1 Saquinavir

Os IP foram introduzidos no mercado em 1995 através do saquinavir, cuja estrutura se encontra representada na figura 2.13. Este liga-se de forma reversível à protease do VIH, inibindo a formação da TR, da PR e da IN e, conseqüentemente, a

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

maturação do vírus. As partículas virais que se formam na presença de saquinavir não se tornam infecciosas. [79], [80]

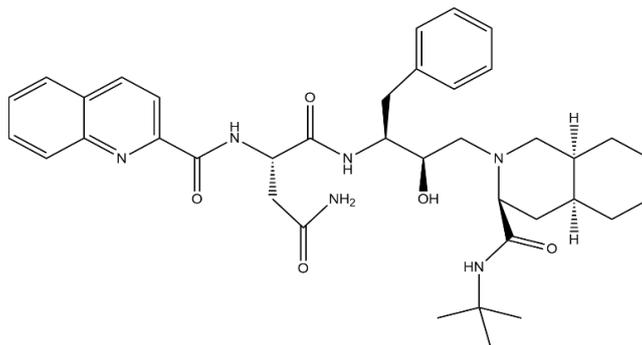


Figura 2.13. Representação da estrutura química do saquinavir.

De entre os fármacos desta classe farmacológica, o saquinavir é o que inibe menos o CYP3A4. No entanto, os fármacos que induzem este CYP podem diminuir as concentrações plasmáticas de saquinavir. Em doentes portadores de VIH, a posologia utilizada é de 1000 mg de saquinavir, em combinação com 100 mg de ritonavir, duas vezes por dia. Relativamente aos efeitos adversos, os mais frequentes são distúrbios gastrointestinais, que incluem diarreia, náuseas e desconforto abdominal. [80], [81]

2.3.2 Indinavir

O indinavir, cuja estrutura se encontra representada na figura 2.14, impede a formação de proteínas enzimáticas virais necessárias para a progressão da infeção. Foi aprovado a 13 de março de 1996 e é normalmente prescrito em associação com inibidores da transcriptase reversa, de forma a suprimir eficazmente a replicação viral e a retardar a seleção para resistências. A metabolização do indinavir ocorre principalmente no CYP3A4, com participação da enzima uridina difosfato glucoroniltransferase (UGT). [82], [83]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

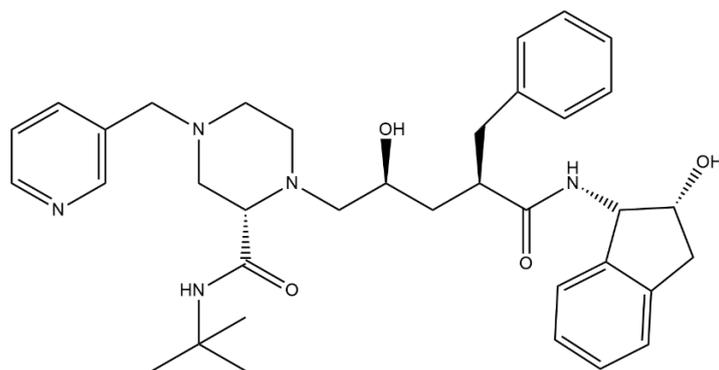


Figura 2.14. Representação da estrutura química do indinavir.

Para o tratamento de VIH com indinavir a posologia recomendada é de 800 mg, de 8 em 8 horas. Em caso de toma concomitante com algum antifúngico, como é o caso do cetoconazol ou itraconazol, deve reduzir-se a dose para 600 mg, de 8 em 8 horas. Um dos principais efeitos adversos é a hiperbilirrubinemia, porque o indinavir é substrato da UGT, provocando um efeito inibitório na conjugação da bilirrubina e consequentemente o aumento dos níveis séricos desta. [82], [83]

2.3.3 Lopinavir/Ritonavir

Aprovado a 15 de setembro de 2000, este fármaco resulta da combinação de duas substâncias ativas, o lopinavir e o ritonavir, ambas pertencentes à classe dos IP. As duas substâncias, cujas estruturas se encontram representadas na figura 2.15, possuem funções distintas nesta combinação. O lopinavir tem como função inibir a protease viral, tornando-a incapaz de processar as poliproteínas e conduzindo à gênese de partículas virais imaturas, não infecciosas e assim atuando através do mecanismo comum aos IP. Por sua vez, o ritonavir, na dosagem utilizada nesta combinação, inibe a metabolização do lopinavir pelo CYP3A, garantindo níveis terapêuticos de lopinavir no plasma. [84]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

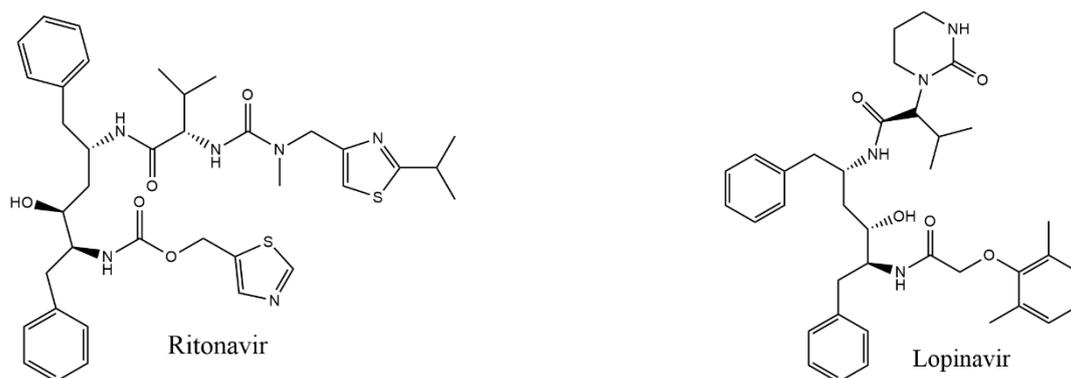


Figura 2.15. Representação da estrutura química do ritonavir e do lopinavir.

A posologia recomendada para esta combinação de fármacos é de 400 mg de lopinavir e 100 mg de ritonavir a cada 12 horas, ou uma dose diária de 800 mg de lopinavir e 200 mg de ritonavir, apenas recomendada em indivíduos sem tratamento prévio com IP. Como referido anteriormente, o ritonavir é inibidor do CYP3A, logo não deve ser administrado concomitantemente com fármacos que dependem deste CYP, como é o caso da colquicina. Isto porque a colquicina deixaria de ser metabolizada, provocando o aumento da sua concentração plasmática e potencializando as reações adversas. Os efeitos adversos mais frequentes desta associação de IP são diarreia, náuseas, vômitos, hipercolesterolemia e aumento dos triglicéridos. [85]

2.3.4 Atazanavir

Aprovado a 20 de junho de 2003, o atazanavir, cuja estrutura se encontra representada na figura 2.16, está indicado para o tratamento de infeções por VIH-1 em adultos e crianças com mais de 6 anos de idade. É recomendada uma posologia de 300 mg, uma vez por dia, em associação com 100 mg ritonavir, sendo este último utilizado como um potenciador do atazanavir. Contudo, não deve ser utilizada uma dose superior a 100 mg de ritonavir, pois pode alterar a segurança e a eficácia do atazanavir. A utilização do potenciador farmacocinético é recomendada, exceto em casos especiais, como por exemplo em indivíduos com insuficiência hepática. [86], [87]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

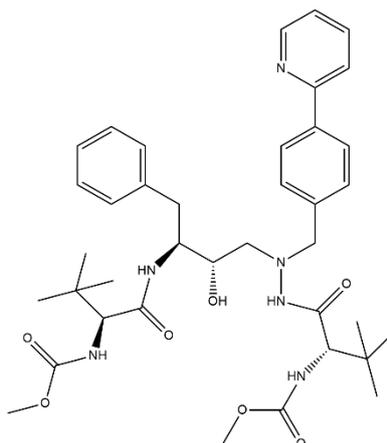


Figura 2.16. Representação da estrutura química do atazanavir.

2.3.5 Tipranavir

O tipranavir foi aprovado pela FDA a 22 de junho de 2005 e está indicado para o tratamento da infecção por VIH-1 em doentes adultos e adolescentes com mais de 12 anos de idade, em associação com o potenciador farmacocinético, ritonavir. O tipranavir, cuja estrutura se encontra representada na figura 2.17, deve ser utilizado apenas como parte de um regime terapêutico de combinação com outros fármacos antirretrovirais. [88]

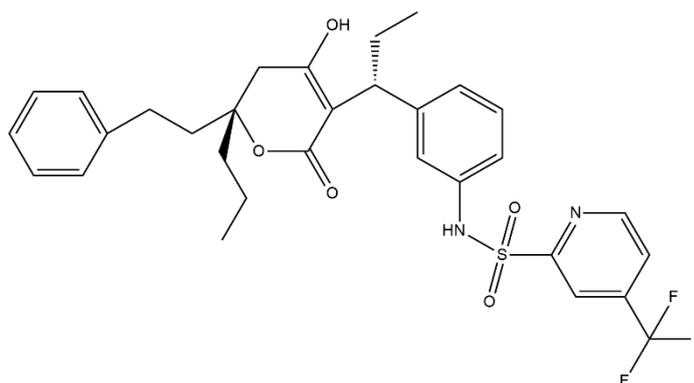


Figura 2.17. Representação da estrutura química do tipranavir.

A posologia recomendada de tipranavir é de 500 mg, em co-administração com 200 mg de ritonavir, duas vezes por dia. Não devem ser administradas doses inferiores a 200 mg de ritonavir, duas vezes por dia, pois pode comprometer a eficácia do tratamento. Falhas na co-administração de tipranavir e ritonavir resultam na diminuição dos valores de concentração plasmática de tipranavir, que se tornam insuficientes para alcançar o efeito antirretroviral desejado. [88]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

2.3.6 Darunavir

O darunavir, cuja estrutura se encontra representada na figura 2.18, foi o último IP a ser aprovado pela FDA, a 23 de junho de 2006. Está indicado para o tratamento da infecção por VIH-1, em doentes adultos e crianças com idade superior a 3 anos e com mais de 15 kg. Este fármaco deve ser sempre administrado com cobicistate ou com ritonavir, como potenciadores farmacocinéticos. O cobicistate tem como principal função melhorar a farmacocinética do darunavir e do atazanavir, através da inibição da enzima que metaboliza esses fármacos, a CYP3A. [89], [90]

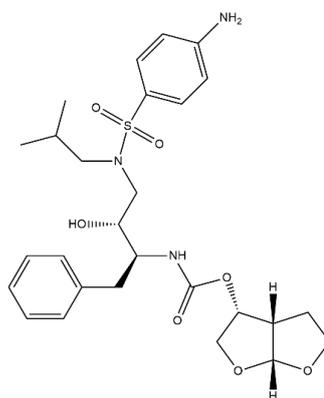


Figura 2.18. Representação da estrutura química do darunavir.

A posologia recomendada de darunavir é de 800 mg, administrada com 150 mg de cobicistate ou 100 mg de ritonavir, uma vez por dia, em doente sem TARV prévia. No caso de doentes previamente submetidos a TARV, a dose de darunavir é de 600 mg, duas vezes por dia. A administração concomitante com indutores do CYP3A provoca a redução das concentrações plasmáticas de darunavir, cobicistate e ritonavir e consequentemente pode levar à perda de eficácia terapêutica, acelerando o desenvolvimento de resistências. [89]

2.3.7 Resumo da informação terapêutica relativa aos IP

Na tabela 2.3, encontra-se o resumo das características dos fármacos utilizados no tratamento do VIH, pertencentes à classe dos inibidores da protease. Nesta tabela estão reunidas informações clinicamente relevantes, como dosagens recomendadas de cada fármaco, os efeitos adversos e as precauções a ter aquando da administração.

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

Tabela 2.3. Resumo das características dos fármacos pertencentes à classe dos IP.

	Dose Recomendada	Efeitos adversos	Precauções
SAQUINAVIR [79]	1000 mg, de 12/12h (+100 mg de ritonavir)	Diarreia; Náuseas; Desconforto abdominal.	Não administrar em doentes com insuficiência hepática severa.
INDINAVIR [82]	800 mg, de 8/8horas.	Hiperbilirrubinémia; Náusea.	Ter em atenção, a co-administração com antifúngicos.
LOPINAVIR/ RITONAVIR [85]	400 mg/100 mg, de 12/12horas OU 800 mg/200 mg, por dia.	Diarreia; Náuseas; Vômitos.	Não administrar juntamente com indutores ou substratos do CYP3A.
ATAZANAVIR [86]	300 mg/dia (+100 mg de ritonavir).	Hiperbilirrubinémia; Febre; Erupção cutânea.	Não administrar juntamente com indutores do CYP3A.
TIPRANAVIR [88]	500 mg, de 12/12horas (+200 mg de ritonavir).	Diarreia; Erupção cutânea.	Ter em atenção a co-administração com substratos do CYP3A.
DARUNAVIR [89]	800 mg/dia (+100 mg de ritonavir ou +150 mg de cobicistate) OU 600 mg, de 12/12horas (+100 mg de ritonavir ou +150 mg de cobicistate).	Diarreia; Cefaleias; Erupção cutânea; Dor abdominal.	Ter em atenção a co-administração com substratos do CYP3A.

2.3.8 Seleção para resistências aos IP

As resistências aos IP ocorrem normalmente através do desenvolvimento de uma ou mais mutações, que provocam alterações na conformação do local de ligação do fármaco com a protease (o seu local ativo). Em alguns casos, estas mutações podem provocar o aumento da atividade enzimática da protease. [78], [91]

Pode-se considerar que a maioria dos IP possuem uma barreira relativamente forte contra a seleção para resistência viral, pois esta requer a acumulação de diversas

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

mutações na enzima protease. Contudo, existe uma variabilidade de resistências dentro desta classe terapêutica, pois foi observado que alguns IP necessitam de menos mutações para que ocorra a resistência, em comparação com outros fármacos. [78], [91]

2.4 Inibidores de fusão

O processo de entrada do VIH na célula hospedeira é complexo e torna-se um potencial alvo para fármacos antirretrovirais. Como referido anteriormente, o vírus entra na célula através da ligação das proteínas do envelope, composto pelas glicoproteínas gp120 e gp41, ao recetor da célula. Esta ligação provoca uma alteração conformacional, permitindo que ocorra a fusão do envelope com a membrana celular e assim favorecendo a entrada do material genético do vírus na célula. [42]

Existe apenas um fármaco pertencente a esta classe, o enfuvirtida cuja estrutura se encontra representada na figura 2.19. Foi aprovado pela FDA a 13 de março de 2003 e liga-se à gp41 do envelope viral, impedindo a mudança estrutural necessária para ocorrer a fusão das membranas. A posologia recomendada de enfuvirtida é de 90 mg, de 12 em 12 horas, com a administração através de injeções subcutâneas no braço, parte da frente da coxa, ou barriga. [42], [92]

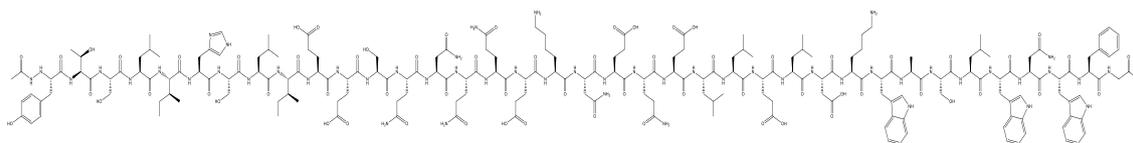


Figura 2.19. Representação da estrutura química do enfuvirtida.

2.5 Inibidores dos co-recetores CCR5

De acordo com a FDA, o único fármaco que atua por inibição dos co-recetores CCR5, é o maraviroc. Este fármaco, cuja estrutura se encontra representada na figura 2.20, foi aprovado a 6 de agosto de 2007 e tem como função ligar-se seletivamente ao recetor humano CCR5 presente nos linfócitos CD4, impedindo o VIH-1 de entrar nas células. A posologia recomendada de maraviroc é de 300 mg, duas vezes por dia. A

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

utilização deste fármaco antirretroviral deve ser exclusiva para indivíduos que apresentem o VIH-1 com tropismo para o CCR5. [93]

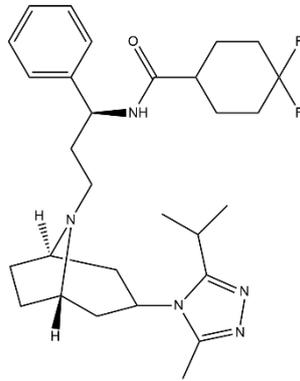


Figura 2.20. Representação da estrutura química do maraviroc.

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

3 Enzima Integrase

Para ultrapassar as limitações das terapêuticas existentes ao nível da TARV, foram investigadas novas abordagens para o tratamento da infeção por VIH. Como não existe nenhum homólogo celular no organismo humano, a enzima integrase foi validada como alvo para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais. O gene Pol é responsável por codificar proteínas com atividade enzimática, como a IN, a PR e a TR. A integrase resulta da clivagem proteolítica do precursor Gag-Pol durante a maturação viral. [29], [94], [95]

A integrase é constituída por 288 aminoácidos, tendo uma massa molecular de 32kDa. Esta enzima é composta por três domínios: o domínio N-terminal ou amino-terminal (NTD), o domínio do centro catalítico (CCD) e o domínio C-terminal (CTD). [29], [94], [95]

Os primeiros 50 aminoácidos formam o domínio NTD, que inclui as histidinas 12 e 16 e as cisteínas 40 e 43, representados na figura 3.1. Este domínio forma um complexo com um catião de zinco, promovendo a estabilização e a atividade catalítica da integrase. [94], [96]

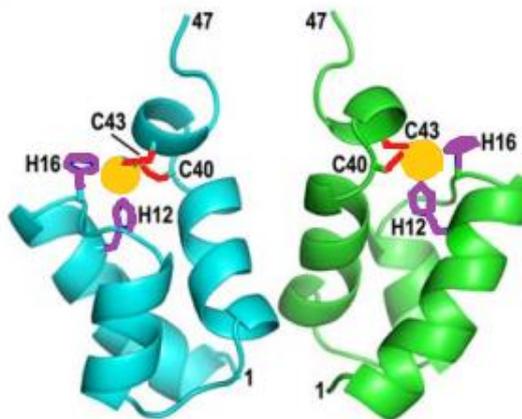


Figura 3.1. Domínio NTD. As histidinas estão representadas a roxo, as cisteínas em encarnado e o átomo de zinco encontra-se a laranja (adaptado de [96]).

O domínio CCD, representado na figura 3.2, é formado por 162 aminoácidos entre eles o ácido aspártico (D) 64, o ácido aspártico (D) 116 e o ácido glutâmico (E) 152, dando origem à tríade catalítica DDE ($D^{64}D^{116}E^{152}$). A presença de mutações na tríade catalítica anula a atividade enzimática da integrase e, conseqüentemente, a replicação viral. Os dois resíduos de ácido aspártico, D^{64} e D^{116} , formam um complexo com iões

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

bivalentes, o Mg^{2+} ou o Mn^{2+} , essencial para a atividade catalítica. Este domínio possui resíduos de aminoácidos Gln148, cruciais para a ligação da integrase ao DNA celular, e de Gln62, His67, Asn114, Asn120 e Asn155. Estes aminoácidos são fundamentais para o processo de integração e replicação do vírus. [94], [96]

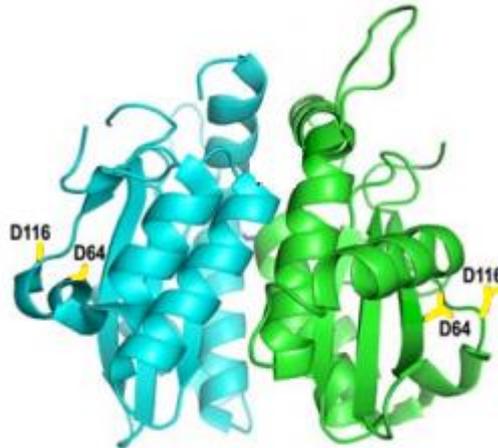


Figura 3.2. Domínio CCD. Os resíduos de ácido aspártico estão representados a amarelo, o ácido glutâmico não é visualizado nesta estrutura (adaptado de [96]).

Por último temos o domínio CTD, representado na figura 3.3, que fica compreendido entre os aminoácidos 213 e 288. Este é responsável pela estabilização das ligações do DNA viral ao DNA da célula hospedeira. [94]

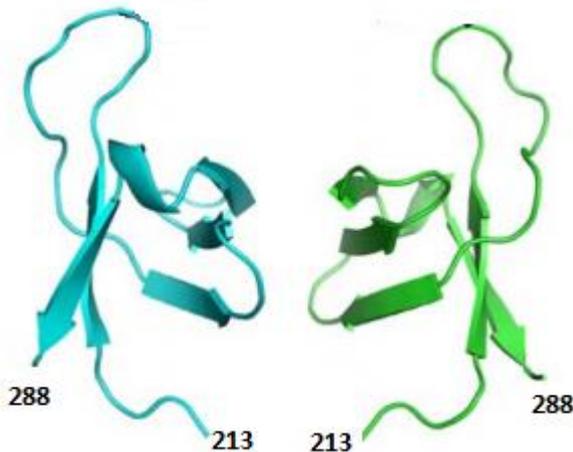


Figura 3.3. Domínio CTD (adaptado de [96]).

Embora o CCD contenha o centro catalítico, o NTD e o CTD são essenciais pois na sua ausência não ocorre a reação de transferência de cadeia. Assim, para que ocorra o processamento 3' é fundamental que os domínios NTD e CTD se encontrem num complexo dimérico. Todavia, a reação de transferência de cadeia implica que a enzima

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

integrase esteja na forma tetramérica, estabilizada por interações com as extremidades do DNA viral, representado na figura 3.4. O processamento 3' e a reação de transferência de cadeia requerem um cofator metálico, o Mg^{2+} ou o Mn^{2+} . Contudo, existem evidências clínicas que demonstraram que o íon Mg^{2+} é fisiologicamente mais revelante. [94], [96]

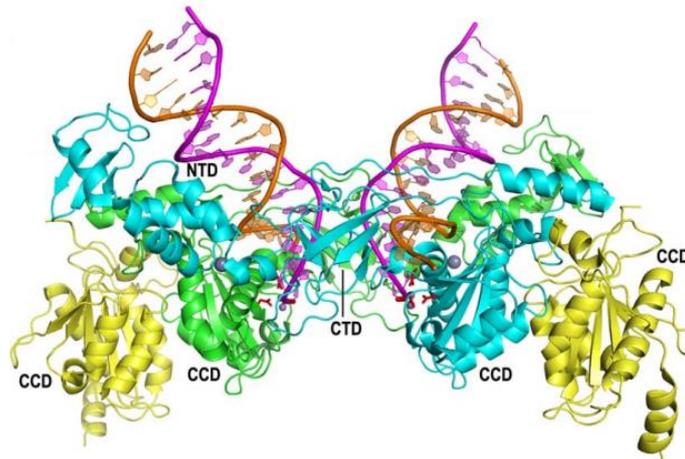


Figura 3.4. Enzima Integrase na forma tetramérica, estabilizada por interações com as extremidades do DNA viral (adaptado de [96]).

3.1 Processo de Integração

O processo de integração do DNA viral na célula hospedeira é fundamental para a progressão da infecção. Após a transcrição reversa do RNA viral, o DNA resultante serve de substrato para as reações catalisadas pela integrase. [35]

Durante a transcrição reversa ocorre a duplicação de sequências U3 e U5, de maneira a que o DNA viral possua uma cópia de 5'-U3RU5-3' em ambas as extremidades. Mutações associadas a estas sequências anulam totalmente a atividade da enzima integrase. Esta enzima, no citoplasma da célula hospedeira, reconhece as sequências específicas, anteriormente descritas, nos terminais longos de repetição (LTR), representadas na figura 3.5. Assim, ocorre a ligação da integrase à região LTR de cada extremidade do DNA viral. Posteriormente ocorre o processamento 3' a partir da extremidade 3' da sequência LTR. [94]–[96]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

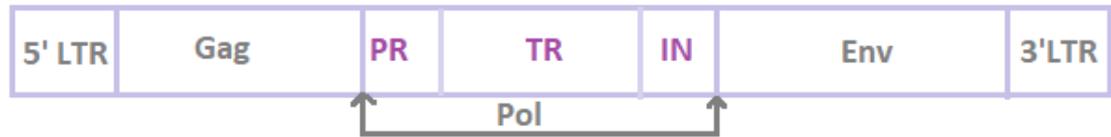


Figura 3.5. Presença de LTR em ambas as extremidades do DNA viral (adaptado de [29]).

O processamento 3' corresponde a um ataque nucleófilo por uma molécula de água, mediado pelo cofator Mg^{2+} , sendo que este aumenta a especificidade da clivagem. Após o processamento 3', ocorre a entrada do complexo de pré-integração para o núcleo. Este complexo é composto por DNA linear, proteínas virais e proteínas celulares. Após a entrada do complexo de pré-integração no núcleo, a integrase utiliza as extremidades 3'-hidroxilo livres como substrato para realizar a reação de transferência de cadeia, ocorrendo a inserção covalente do DNA viral no genoma do hospedeiro. Por fim ocorre a etapa final, que consiste na reparação do DNA através da remoção dos nucleótidos não emparelhados. [94]

4 Inibidores da Integrase

A descoberta da estrutura da enzima integrase levou à identificação de novos fármacos antirretrovirais. Os fármacos comercialmente disponíveis pertencentes a esta classe terapêutica têm como alvo a reação de transferência de cadeia, daí a designação de Inibidores da Transferência da Cadeia da Integrase (do inglês, Integrase strand-transfer inhibitors (InSTI)). São a classe mais recente de medicamentos ARV aprovados pela FDA para o tratamento da infecção por VIH. Espera-se que a identificação dos inibidores seletivos da integrase resulte em fármacos seletivos, eficazes e seguros, pois não existe nenhum homólogo desta enzima viral no ser humano. [35], [97]

Apenas três fármacos desta classe terapêutica estão aprovados pela FDA para o tratamento da infecção por VIH: o raltegravir, o elvitegravir e o dolutegravir. Nestes fármacos foi observada uma amplitude única de atividade antirretroviral contra o VIH-1 e o VIH-2. [35], [48]

Como classe antirretroviral, os InSTI possuem um bom perfil de segurança. Os efeitos adversos mais comuns, presentes nesta classe terapêutica, incluem distúrbios gastrointestinais leves a moderados, como náuseas e diarreia, cefaleias e insónias. Estas, quando relacionadas com a toma destes fármacos ARV, podem afetar até 3,5% dos indivíduos submetidos a dolutegravir e até 4% dos submetidos a raltegravir. Reações de hipersensibilidade e depressão também podem ocorrer, mas são mais raras. [98], [99]

A integrase do VIH é responsável pelo transporte e pela ligação do DNA viral ao genoma da célula hospedeira, permitindo a transcrição de proteínas virais e posteriormente a montagem de novas partículas. A integração envolve duas reações catalíticas: o processamento 3' no citoplasma da célula hospedeira, para preparar a fixação; e, por fim, a transferência de cadeias, em que o DNA viral se liga covalentemente ao DNA celular. Os InSTI ligam-se ao complexo específico entre a integrase e o DNA viral e interagem com iões de magnésio no sítio ativo. Os inibidores da integrase são a única classe terapêutica que interage com dois elementos essenciais do vírus, a enzima integrase e o DNA viral, que é o substrato para a integração. [35]

Os fármacos InSTI de primeira geração, o raltegravir e o elvitegravir, foram bem sucedidos em ambientes clínicos mas possuem barreiras genéticas para a resistência

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

relativamente baixas, pois com apenas uma alteração genética (uma mutação) ocorre a resistência aos fármacos. Todavia, possuem um grau de resistência cruzada elevado. A resistência cruzada ocorre quando o vírus possui resistência a um medicamento a que ainda não foi exposto, devido a uma resistência adquirida a outro medicamento antirretroviral. A investigação no desenvolvimento de inibidores da integrase de segunda geração deu origem ao dolutegravir, que possui uma barreira genética elevada, necessitando de várias mutações para que ocorra resistência. [97]

4.1 Raltegravir

O raltegravir, aprovado pela FDA a 12 de outubro de 2007, foi o primeiro fármaco pertencente à classe farmacológica dos InSTI. Está indicado no tratamento da infecção pelo VIH-1, em associação com outros medicamentos ARV. O raltegravir, cuja estrutura está representado na figura 4.1, inibe a enzima integrase, impossibilitando a sua atividade catalítica. Assim, o genoma do VIH não consegue integrar-se no genoma da célula hospedeira, não podendo desencadear a produção de novas partículas virais e consequentemente evitando a propagação da infecção viral. [39], [100]

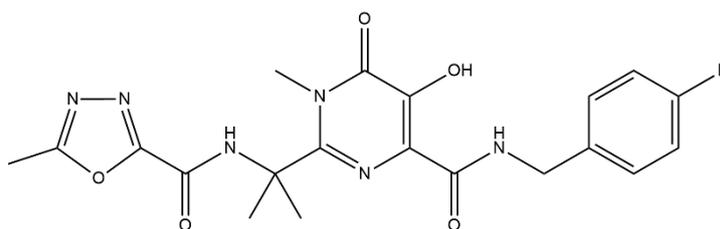


Figura 4.1. Representação da estrutura química do raltegravir.

A posologia recomendada de raltegravir para o tratamento da infecção pelo VIH-1, em doentes adultos e pediátricos com peso igual ou superior a 25 kg, é de 400 mg, duas vezes por dia. No caso de doentes adultos e pediátricos com peso igual ou superior a 40 kg, a posologia aumenta para 1 200 mg, dois comprimidos de 600 mg, uma vez por dia. Esta posologia é indicada a doentes sem tratamento prévio ou, quando ocorre supressão viral, quando inicialmente tratados com comprimidos de 400 mg de raltegravir, duas vezes por dia. O fármaco pode ser administrado com ou sem alimentos, pois estes não vão influenciar a sua biodisponibilidade. [100]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

Em ensaios clínicos aleatórios, o raltegravir foi administrado em quatro grupos: administração de 400 mg, duas vezes por dia, em doentes adultos com e sem tratamento prévio; ou, noutros, administração de 1 200 mg de raltegravir, uma vez por dia. As reações adversas notificadas com maior frequência foram cefaleias, náuseas e dor abdominal. As reações adversas graves que foram notificadas com maior frequência são a erupção cutânea e a síndrome inflamatória de reconstituição imunológica. Esta síndrome ocorre quando o sistema imunológico é restaurado rapidamente, após o início da TARV, provocando uma resposta inflamatória exacerbada contra o agente patogénico. Também foi notificado o aparecimento de rabdomiólise, após a administração de 400 mg de raltegravir, duas vezes por dia, uma reação adversa grave, embora pouco frequente. Contudo, os casos de suspensão da terapêutica com raltegravir devido a reações adversas foram inferiores a 5%, em ensaios clínicos. [100], [101]

Os ensaios *in vitro* demonstraram que o raltegravir não é substrato do citocromo P450 e das UGTs. Logo, é de prever que este agente antirretroviral não afete a farmacocinética de fármacos que sejam substratos destas enzimas. Todavia, de acordo com estudos *in vivo*, o raltegravir é eliminado maioritariamente pela metabolização através da via de glucoronidação, mediada pela UGT1A1. Assim, a administração concomitante com medicamentos que sejam inibidores desta enzima, como é o caso do atazanavir, do indinavir e do saquinavir, pode provocar o aumento dos níveis plasmáticos de raltegravir. [100], [102]

A administração de antiácidos que contenham alumínio e/ou magnésio provoca a diminuição dos níveis plasmáticos de raltegravir. Consequentemente, não é recomendada a administração concomitante deste agente antirretroviral com antiácidos que contenham alumínio e/ou magnésio. O mesmo acontece com a rifampicina um antibiótico bactericida e um indutor potente da UGT1A1, provocando a redução dos níveis plasmáticos de raltegravir. Quando a utilização de rifampicina não pode ser evitada, deve ser considerada uma duplicação da dose de raltegravir em adultos, apenas caso estes estejam sujeitos a tratamento com uma dose de 400 mg, duas vezes por dia. A tabela 4.1 resume algumas características do fármaco acima mencionadas. [102], [103]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

Tabela 4.1. Resumo das características do raltegravir.

	Dose Recomendada	Efeitos adversos	Precauções
RALTEGRAVIR [100]	400 mg, de 12/12horas OU 1 200 mg/dia.	Cefaleias; Náuseas; Dor abdominal.	Não administrar com antiácidos que contenham alumínio e/ou magnésio. Tentar não administrar com rifampicina.

4.1.1 Seleção para resistências ao raltegravir

Quanto à seleção para resistências, o raltegravir apresenta uma barreira genética relativamente reduzida, devendo por isso ser administrado em combinação com outros dois fármacos ARV (terapêutica de combinação), de modo a retardar o desenvolvimento de resistências. [48], [100]

Desde a sua aprovação pela FDA, o raltegravir demonstrou ser bem tolerado pela maioria dos doentes. Nos doentes em que houve insucesso da terapia, os vírus isolados apresentavam duas ou mais mutações no gene da integrase. A maioria dos vírus tinham uma mutação no aminoácido 155 (alterado de asparagina para histidina), no aminoácido 148 (alterado de glutamina para histidina, leucina ou arginina), ou no aminoácido pertencente à posição 143 (alterado de tirosina para histidina, cisteína ou arginina). As mutações presentes em cada um dos aminoácidos descritos anteriormente, reduzem por si só a suscetibilidade ao raltegravir, podendo provocar uma melhoria da aptidão viral para a resistência ao fármaco. [97], [104]

4.2 Elvitegravir

O elvitegravir, cuja estrutura se representa na figura 4.2, recebeu autorização de comercialização na UE a 13 de novembro de 2013, para o tratamento de infeção pelo VIH-1. Todavia, a 3 de novembro de 2016 a Comissão Europeia retirou a Autorização de Introdução no Mercado, na UE, do fármaco sob a forma de comprimido só contendo o elvitegravir, por razões comerciais. No entanto, o elvitegravir está presente no mercado

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

numa formulação de combinação que inclui o cobicistate, a emtricitabina e o tenofovir DF, designada comercialmente por Stribild. [105], [106]

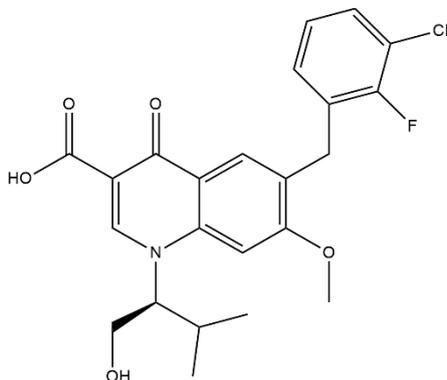


Figura 4.2. Representação da estrutura química do elvitegravir.

Quando o elvitegravir era comercializado, sob a forma de comprimido contendo unicamente esse agente antirretroviral, a sua dose recomendada era de 85 ou 150 mg, uma vez por dia. Tinha de ser administrado concomitantemente com alimentos e com um inibidor da protease potenciado pelo ritonavir. A posologia recomendada de elvitegravir dependia do inibidor da protease co-administrado. O elvitegravir tinha de ser administrado à mesma hora de um inibidor da protease potenciado pelo ritonavir. Na tabela 4.2, estão apresentados os regimes posológicos que eram recomendados. [107]

Tabela 4.2. Regime posológico recomendado de elvitegravir.

Posologia de EVG [107]	Dose do IP potenciado pelo ritonavir
85 mg, uma vez por dia	300 mg de atazanavir + 100 mg de ritonavir → uma vez por dia.
	400 mg de lopinavir + 100 mg de ritonavir → duas vezes por dia.
150 mg, uma vez por dia	600 mg de darunavir + 100 mg de ritonavir → duas vezes por dia.
	700 mg de fosamprenavir + 100 mg de ritonavir → duas vezes por dia.

No caso do Stribild, a formulação contém 150 mg de elvitegravir, 150 mg de cobicistate, 200 mg de emtricitabina e 300 mg tenofovir DF. Em adultos e adolescentes com idade igual ou superior a 12 anos e com massa corporal superior a 35 kg, a posologia é de um comprimido, uma vez por dia, ingerido com alimentos. [105]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

O elvitegravir é metabolizado majoritariamente pelo CYP3A. Assim, a administração concomitante com indutores desta enzima, como é o caso da rifampicina, da carbamazepina, do fenobarbital e da fenitoína, é contraindicada, pois provoca a supressão das concentrações plasmáticas do elvitegravir e pode conduzir a perda do efeito terapêutico e ao desenvolvimento de resistências. Todavia, o elvitegravir sofre também metabolização pelas enzimas UGT1A1 e UGT1A3. A administração de inibidores potentes destas, como é o caso do atazanavir e do lopinavir, potenciados pelo ritonavir, resulta no aumento das concentrações plasmáticas de elvitegravir. Conseqüentemente, na utilização destes fármacos, que inibem a UGT1A1 e a UGT1A3, a dose de elvitegravir deve diminuir de 150 para 85 mg. [107]

As reações adversas mais frequentes que foram notificadas e que estão associadas ao elvitegravir estão compiladas na tabela 4.3. [107]

Tabela 4.3. Resumos das reações adversas associadas ao elvitegravir.

Frequência [107]	Reações adversas
Frequentes	Cefaleias;
	Dor abdominal, diarreia, vômitos e náuseas;
	Erupção cutânea;
	Fadiga.
Pouco frequentes	Depressão e insônias;
	Tonturas e sonolência;
	Flatulência.

4.2.1 Seleção para resistências ao elvitegravir

O elvitegravir possui uma barreira genética fraca relativamente a seleção para resistências. Os vírus que desenvolveram mecanismos de resistências contra este fármaco apresentam geralmente resistência cruzada ao raltegravir, porque as mutações acabam por acontecer nos mesmos codões (155 e 148) para ambos os fármacos. [107]

A resistência ao elvitegravir está relacionada com mutações no aminoácido 66 (alterado de treonina para isoleucina), no aminoácido 147 (alterado de serina para glicina), no aminoácido 97 (alterado de treonina para alanina) e com as mutações que provocam resistência ao raltegravir, no aminoácido 155 (alterado de asparagina para histidina) e no aminoácido 148 (alterado de glutamina para histidina, leucina ou

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

arginina). Assim, o elvitegravir deve ser administrado com um IP potenciado pelo ritonavir totalmente ativo, de forma a minimizar o desenvolvimento de resistências e o potencial de falência farmacológica. [107], [108]

4.3 Dolutegravir

O dolutegravir, aprovado pela FDA a 13 de agosto de 2013, é um inibidor da integrase de segunda geração com uma potência antiviral e tolerabilidade semelhantes aos inibidores de integrase de primeira geração (raltegravir e elvitegravir). A administração de dolutegravir está indicada para o tratamento de adultos e crianças com mais de 6 anos de idade, infetados pelo VIH, em combinação com outros fármacos ARV. O dolutegravir, cuja estrutura se representa na figura 4.3, liga-se ao local ativo da enzima integrase, bloqueando a integração do DNA viral. Sendo este um passo essencial ao ciclo de replicação, o VIH deixa de produzir novas partículas virais. [39], [99], [109]

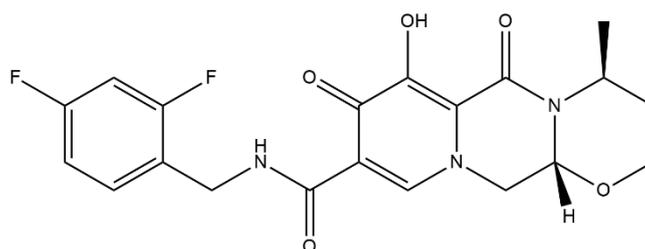


Figura 4.3. Representação da estrutura química do dolutegravir.

No caso de doentes adultos infetados com VIH-1 sem resistência à classe dos inibidores de integrase, a posologia recomendada é de 50 mg, uma vez por dia. Quando o dolutegravir é administrado concomitantemente com outros medicamentos antirretrovirais (efavirenz, nevirapina ou tripanavir, potenciado pelo ritonavir), e caso o doente infetado possua resistência a esta classe terapêutica, a posologia aumenta para 50 mg, duas vezes por dia. [99]

Relativamente às crianças entre os 6 e os 12 anos de idade e com peso inferior ou igual a 15 kg, há três doses disponíveis: 10, 25 e 50 mg. A posologia recomendada, apresentada na tabela 4.4, é determinada de acordo com o peso da criança. [99]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

Tabela 4.4. Posologia para dolutegravir recomendada em pediatria.[99]

Peso (kg)	Posologia recomendada
De 15 a 20 kg	20 mg, uma vez por dia (2 comprimidos de 10 mg).
De 20 a 30 kg	25 mg, uma vez por dia.
De 30 a 40 kg	35 mg, uma vez por dia (1 comprimido de 25 mg + 1 de 10 mg).
Mais de 40 kg	50 mg, uma vez por dia.

Em relação aos efeitos adversos, foram notificadas reações de hipersensibilidade, que incluem erupção cutânea e, por vezes, disfunção orgânica, nomeadamente reações hepáticas graves. A administração de dolutegravir deve ser rapidamente suspensa caso surjam sintomas de reações de hipersensibilidade, pois podem resultar numa reação alérgica fatal. Também foi observado a síndrome inflamatória de reconstituição imunológica durante as primeiras semanas, ou meses, após início da terapia. [110]

Este fármaco é eliminado através da metabolização pela UGT1A1 e é substrato da enzima CYP3A4. Medicamentos que induzam estas enzimas podem reduzir a concentração do dolutegravir. Caso seja administrado com medicamentos que inibam essas enzimas, como por exemplo o atazanavir, observar-se-á um aumento das concentrações plasmáticas de dolutegravir. Os antiácidos à base de alumínio e/ou magnésio devem ser administrados 6 horas antes, ou 2 horas após a toma de dolutegravir, pois reduzem a sua absorção. Na tabela 4.5, estão resumidas as características anteriormente descritas. [110]

Tabela 4.5. Resumo das características do dolutegravir.

	Dose Recomendada	Efeitos adversos	Precauções
DOLUTEGRAVIR [99]	50 mg, uma vez por dia.	Erupção cutânea; Cefaleias; Náuseas; Diarreia.	Não administrar concomitantemente com antiácidos que contenham alumínio e/ou magnésio.

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

4.3.1 Seleção para resistências ao dolutegravir

O dolutegravir apresenta barreira às resistências e potência farmacológica elevadas, semelhantes aos IP. No entanto, deve ter-se em conta, na decisão de utilizar dolutegravir, a presença de resistências à classe dos InSTI. O dolutegravir é eficaz na presença da maioria das mutações que conferem resistência ao raltegravir e ao elvitegravir, exceto na presença da mutação no aminoácido 148, não conseguindo atuar de forma eficaz, principalmente quando esta mutação se associa com pelo menos uma das seguintes mutações: no aminoácido 140 (alterado de glicina para alanina, cisteína ou serina), no aminoácido 138 (alterado de glutamato para alanina, lisina ou treonina) ou no aminoácido 74 (alterado de leucina para isoleucina). Como referido anteriormente, nos doentes infetados por estripes resistentes a posologia passa para 50 mg, duas vez dia. [99], [108], [109]

Foram efetuados estudos *in vitro* para o dolutegravir que sugeriram um padrão de resistência diferente dos restantes inibidores da integrase, o raltegravir e o elvitegravir, em termos de barreira à resistência. Combinando os elementos-chave para um uso em monoterapia foi fácil verificar a semelhança entre o dolutegravir e os IP, sendo esta classe terapêutica bem conhecida por possuir uma alta barreira genética à resistência. [109]

5 HAART

Em meados dos anos 90, devido à falta de conhecimento sobre a doença e à ausência de terapêutica eficaz, muitos doentes com SIDA perderam as suas vidas. A introdução da TARV, em particular da Terapêutica Antirretroviral de Alta Eficácia (do inglês, Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART)), aportou alterações significativas no controlo das infeções pelo VIH. Esta terapêutica tem como objetivo diminuir a carga viral, melhorar a resposta imunológica, melhorar a qualidade de vida do doente e suprimir a morbilidade e mortalidade associada a esta doença. Com a utilização desta terapêutica, assistimos a uma diminuição gradual da mortalidade e também da incidência das infeções. [111], [112]

A HAART, desenvolvida há aproximadamente 20 anos, combina agentes antirretrovirais diferentes e de diferentes classes. A sua utilização proporcionou o aumento da esperança média de vida em doentes infetados, comparando com os resultados obtidos quando os fármacos antirretrovirais são tomados isoladamente. A adesão à terapêutica antirretroviral é um fator crucial para o aumento da esperança média de vida dos indivíduos infetados por VIH. Esta adesão depende do cumprimento de todo um leque de comportamentos essenciais, que inclui a tomada de decisão, a motivação e a manutenção da terapêutica, sem os quais a eficácia do tratamento ficará comprometida. [111], [112]

Inicialmente, a HAART combinava fármacos pertencentes aos NRTI e aos NNRTI, de modo a inibir a atividade da TR. Posteriormente, foram utilizadas combinações de NRTI/NNRTI, juntamente com IP, pois estes interferem na proliferação do vírus e na atividade da TR. Mais recentemente começou a utilizar-se os inibidores da integrase, que inibem a integração do vírus no genoma humano. Na tabela 5.1 e 5.2, encontram-se as recomendações portuguesas de regimes terapêuticos para o tratamento de indivíduos infetados por VIH-1 e VIH-2, respetivamente. [111]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

Tabela 5.1. Regime terapêutica em doentes com infeção por VIH-1.

TARV [113]		
Preferencial	Alternativo	Preferencial
InSTI		NRTI
Dolutegravir Raltegravir		Tenofovir DF/Emtricitabina Abacavir/Lamivudina
Elvitegravir/cobicistate		Tenofovir DF/Emtricitabina
NNRTI		NRTI
Rilpivirina	Efavirenz	Tenofovir DF/Emtricitabina Abacavir/Lamivudina
IP		NRTI
	Darunavir/ritonavir Atazanavir/ritonavir	Tenofovir DF/Emtricitabina Abacavir/Lamivudina

Tabela 5.2. Regimes terapêuticos em doentes com infeção por VIH-2.

TARV [113]	
IP	NRTI
Lopinavir/ritonavir Saquinavir/ritonavir Darunavir/ritonavir	Tenofovir DF/Emtricitabina Abacavir/Lamivudina
InSTI	NRTI
Raltegravir Dolutegravir	Tenofovir DF/Emtricitabina Abacavir/Lamivudina
Elvitegravir/cobicistate	Tenofovir DF/Emtricitabina

Existem, sob a forma de um único comprimido, e também separadamente, as seguintes combinações de agentes antirretrovirais: tenofovir DF/emtricitabina; abacavir/lamivudina; dolutegravir/abacavir/lamivudina; rilpivirina/tenofovir DF/emtricitabina e efavirenz/tenofovir DF/emtricitabina. [113]

A formulação que contém os agentes antirretrovirais, elvitegravir/cobicistate/tenofovir DF/emtricitabina só se encontra disponível sob a forma de um único comprimido, e não separadamente. Esta formulação é comercialmente designada por Stribild contendo 150 mg de elvitegravir, 150 mg de cobicistate, 200 mg de emtricitabina e 300 mg tenofovir DF. [113]

6 Perspetivas Futuras dos InSTI

A terapêutica antirretroviral melhorou drasticamente a qualidade de vida dos doentes infetados pelo VIH. Existem, atualmente, 36 medicamentos antirretrovirais, pertencentes a seis classes farmacológicas distintas, e vários esquemas efetivos de primeira linha para o tratamento do VIH. Todavia, apesar dos avanços notáveis registados, a adesão à terapêutica antirretroviral continua a ser fundamental para manter a supressão viral, prevenir o surgimento de resistências e reduzir o risco de transmissão do vírus. Assim, os agentes ARV de longa duração permitem alcançar exposições prolongadas de concentrações terapêuticas, promovendo regimes terapêuticos mais simplificados, que não requerem a administração diária. [114]

O cabotegravir encontra-se na fase III dos ensaios clínicos para o tratamento e prevenção da infeção pelo VIH. Este fármaco, cuja estrutura está representado na figura 6.1, é um potente InSTI e um análogo do dolutegravir. As propriedades físico-químicas e farmacocinéticas do cabotegravir permitiram a sua formulação como um comprimido para administração oral, diária, e como uma nanossuspensão de longa duração, a ser administrada através de uma injeção intramuscular, mensal ou trimestral. [114]

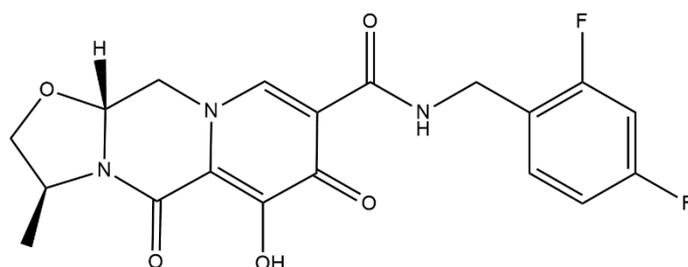


Figura 6.1. Representação da estrutura química do cabotegravir.

No tratamento da infeção pelo VIH, o novo regime terapêutico contendo dois fármacos, cabotegravir e rilpivirina, em que este último também foi formulado para ser administrado através de uma injeção, de longa duração, demonstraram uma atividade antiviral potente para a manutenção da supressão viral em doentes virgens de tratamento. A segurança e eficácia deste regime terapêutico, administrado por via intramuscular, uma vez por mês ou a cada dois meses, está sob investigação num ensaio clínico de fase III. Foi submetido à FDA, em abril de 2019, um pedido de aprovação de comercialização de um medicamento contendo cabotegravir e rilpivirina, para o

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

tratamento da infecção pelo VIH. A submissão à FDA também incluiu um pedido de aprovação da formulação oral de cabotegravir. [114], [115]

O bictegravir, cuja estrutura está representado na figura 6.2, mostrou ser um potente inibidor da integrase em testes pré-clínicos. Foi aprovado a 7 de fevereiro de 2018, para o tratamento da infecção pelo VIH-1 em adultos que não receberam previamente terapêutica antirretroviral, ou para substituição do regime terapêutico. O bictegravir é unicamente formulado através de um comprimido de dose fixa, que contém 50 mg de bictegravir, 200 mg de emtricitabina e 25 mg de tenofovir alofenamida, os dois últimos fármacos pertencentes à classe dos NRTI. A posologia recomendada é de um comprimido por dia, podendo ser administrado com ou sem alimentos. [41], [116]

É importante referir que este fármaco, devido à sua estrutura química, associa-se a proteínas plasmáticas e provoca a redução do risco de interação entre medicamentos. O bictegravir apresenta um tempo de residência no complexo IN-DNA viral elevado, provocando uma potente atividade antirretroviral e uma alta barreira genética *in vitro*. Este fármaco apresenta um perfil de resistência melhorado, em comparação aos inibidores de integrase de primeira geração. [117]

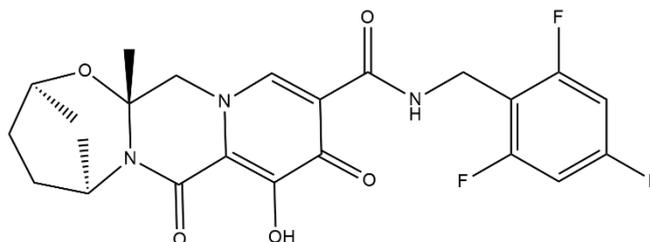


Figura 6.2. Representação da estrutura química do bictegravir.

Ensaio clínicos de fase I avaliaram doses de bictegravir de 5 a 600 mg em indivíduos saudáveis. Os resultados demonstraram que este fármaco é bem absorvido, liga-se fortemente a proteínas plasmáticas e é metabolizado pelo CYP3A4 e pela UGT1A1. Todavia, é necessário a inibição de ambas as enzimas, através da administração concomitante com atazanavir, por exemplo, para haver um aumento substancial das concentrações plasmáticas de bictegravir. A administração de fármacos que induzem fortemente o CYP3A4 e a UGT1A1, como é o caso da rifampicina, provoca uma redução significativa nas concentrações plasmáticas de bictegravir. [117]

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

Atualmente, encontra-se em ensaios clínicos de fase III a possível mudança de terapêutica antirretroviral, para bictegravir, emtricitabina, e tenofovir alafenamida, em doentes com tratamento prévio mas serologicamente reprimidos, tendo como principais alvos, as populações mais frágeis: crianças, adolescentes e idosos. [116], [117]

7 Conclusão

O vírus da imunodeficiência humana (VIH) é um retrovírus que ataca o sistema imunológico, provocando o enfraquecimento do sistema de defesa dos indivíduos contra as infeções e conseqüentemente tornando-os imunodeficientes. Quando a contagem de linfócitos T CD4 é inferior a 200 células/ μL considera-se que o indivíduo possui a síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA). Apesar dos intensos esforços para controlar esta doença, estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) revelam que, em 2018, cerca de 37,9 milhões de pessoas eram portadoras de VIH, das quais 770 mil resultaram em morte por causas relacionadas com a infeção.

Muito se fez, entretanto, em Portugal e noutros países, para travar o vírus. Foram implementados programas para promover a prevenção, como por exemplo a campanha “Diz não a uma seringa em segunda mão”. No âmbito deste programa foram distribuídas e trocadas cerca de 1 milhão seringas, em Portugal. As campanhas para a prevenção insistem em cuidados como a utilização de preservativo, limitar o número de parceiros sexuais e nunca compartilhar agulhas, medidas que contrariam a transmissão do vírus.

Contudo, estas medidas de prevenção não são suficientes para travar a epidemia. Sendo a infeção por VIH uma doença crónica, em que não existe cura, a inibição da replicação viral é crucial para limitar quaisquer danos que o vírus possa causar, o que impõe um tratamento contínuo de manutenção e controlo da carga viral. A utilização de fármacos antirretrovirais tem como objetivos promover a redução da mortalidade e morbilidade associadas ao vírus, preservar o estado de saúde do doente e o seu sistema imunitário e prevenir a transmissão. Deste modo, a terapêutica evoluiu para a administração de diversas combinações de agentes antirretrovirais, tendo como preferência fármacos de classes farmacológicas distintas e modos de ação diferentes.

De acordo a FDA, autoridade responsável do medicamento nos Estados Unidos da América, existem seis classes diferentes de antirretrovirais, classificadas de acordo com o alvo terapêutico, que atuam nas diferentes fases do ciclo replicativo do vírus. A utilização de combinações de fármacos antirretrovirais no tratamento do VIH, apesar de ser eficaz no controlo da replicação viral, é prejudicada pelo possível desenvolvimento de resistências virais.

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

Para ultrapassar as limitações das terapêuticas existentes foram investigadas novas abordagens para o tratamento da infecção por VIH. Como não existe nenhum homólogo celular no organismo humano, a enzima integrase tornou-se um alvo ideal para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais. A integrase do VIH é responsável pelo transporte e pela ligação do DNA viral ao genoma da célula hospedeira, permitindo a transcrição de proteínas virais e posteriormente a montagem de novas partículas.

Os fármacos atualmente disponíveis que pertencem à classe dos inibidores da integrase têm como alvo a reação de transferência de cadeia. Esta classe farmacológica corresponde à classe mais recente de medicamentos antirretrovirais aprovados pela FDA para o tratamento do VIH, composta pelos fármacos raltegravir, elvitegravir e dolutegravir. Os inibidores da integrase são a única classe terapêutica que interage com dois elementos essenciais do vírus: a enzima IN e o DNA viral, que é o substrato para a integração.

Apesar dos avanços notáveis da terapêutica, a adesão à terapia antirretroviral continua a ser fundamental para manter a supressão viral, prevenir o surgimento de resistência e reduzir o risco de transmissão do vírus. Assim, atraem especial interesse os agentes antirretrovirais de longa duração, que permitem alcançar exposições prolongadas em concentrações terapêuticas, promovendo regimes de tratamento mais simplificados que não requerem a administração diária, como é o caso do cabotegravir. Este fármaco encontra-se na fase III dos ensaios clínicos para o tratamento e prevenção da infecção pelo VIH. As suas propriedades físico-químicas e farmacocinéticas permitiram a sua formulação através de uma nanossuspensão, para administração através de uma injeção intramuscular, mensal ou trimestral.

Seguramente, a SIDA irá continuar a ser uma doença presente nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. Somente com um esforço coletivo da comunidade científica, entidades competentes de saúde e toda a população em risco, será possível, no futuro, alcançar o controlo desta doença, que continua a ter um enorme impacto na humanidade.

8 Referências Bibliográficas

- [1] L. Wilkinson. History of Virology. *Encycl. Life Sci.* 608–612 (2014).
- [2] A. Grzybowski, J. Sak, E. Suchodolska, and M. Virmond. Lepra: Various etiologies from miasma to bacteriology and genetics. *Clin. Dermatol.* **33**, 3–7 (2015).
- [3] L. J. Hoenig, A. C. Jackson, and G. M. Dickinson. The early use of Pasteur’s rabies vaccine in the United States. *Vaccine.* **36**, 4578–4581 (2018).
- [4] P. M. Sharp and B. H. Hahn. The evolution of HIV-1 and the origin of AIDS. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **365**, 2487–2494 (2010).
- [5] J. D. Reeves and R. W. Doms. Human immunodeficiency virus type 2. *Gen. Virol.* **83**, 1253–1265 (2002).
- [6] Centers for Disease Control and Prevention. HIV and AIDS Timeline. 2017. [Online]. Available: <https://npin.cdc.gov/pages/hiv-and-aids-timeline>. [Accessed: 11-Mar-2019].
- [7] R. C. Gallo and L. Montagnier. The discovery of HIV as the cause of AIDS. *N. Engl. J. Med.* **349**, 2283–2285 (2003).
- [8] F. Barré-Sinoussi, J. C. Chermann, F. Rey, S. Chamaret, and L. Montagnier. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science.* **220**, 868–871 (1983).
- [9] A. M. Lever and B. Berkhout. 2008 Nobel prize in Medicine for discoverers of HIV. *Retrovirology.* **5**, 91 (2008).
- [10] World Health Organization. HIV / AIDS. [Online]. Available: <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>. [Accessed: 13-Mar-2019].
- [11] P. Sharp and B. Hahn. Origins of HIV and the AIDS Pandemic. *Cold Spring Harb Perspect Med.* **1**, 6841 (2011).
- [12] E. Valadas and F. Antunes. HIV-2: the Portuguese Connection. *Clin. Infect. Dis.* **39**, 1553–1554 (2004).
- [13] F. Clavel, M. O. Santos-Ferreira, and L. Montagnier. Human immunodeficiency virus type 2 infection associated with aids in west Africa. *N. Engl. J. Med.* **19**, 1180–1185 (1987).
- [14] H. M. Marques, L. M. Sêco, A. E. Assunção, and B. N. Kuan. Estudo seroepidemiológico do vírus da imunodeficiência humana tipo 2. *Acta Med. Port.* **17**, 281–290 (2004).
- [15] International Committee on Taxonomy of Viruses. Taxonomy. 2018. [Online]. Available: <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>. [Accessed: 23-Mar-2019].
- [16] AIDSinfo. Retrovirus|Definition. 2018. [Online]. Available: <https://aidsinfo.nih.gov/understanding-hiv-aids/glossary/634/retrovirus>. [Accessed: 04-Apr-2019].

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

- [17] Direção-Geral da Saúde. Desafios e Estratégias. 2018. [Online]. Available: https://www.sns.gov.pt/wp-content/uploads/2018/07/RelatorioVIH_SIDA2018. [Accessed: 25-Mar-2019].
- [18] Centers for Disease Control and Prevention. HIV Transmission. 2018. [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/hiv/basics/transmission.html>. [Accessed: 25-Mar-2019].
- [19] G. M. Shaw and E. Hunter. HIV transmission. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2**, 6965 (2012).
- [20] Centers for Disease Control and Prevention. Prevention. 2019. [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/hiv/basics/prevention.html>. [Accessed: 26-Mar-2019].
- [21] Centers for Disease Control and Prevention. About HIV/AIDS. [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/hiv/basics/whatishiv.html>. [Accessed: 04-Feb-2019].
- [22] Centers for Disease Control and Prevention. Testing HIV Basics. 2018. [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/hiv/basics/testing.html>. [Accessed: 28-Mar-2019].
- [23] Direção-Geral da Saúde. Diagnóstico e rastreio laboratorial da Infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH). **58**, 1–16 (2014).
- [24] World Health Organization. HIV/AIDS surveillance in Europe. 2018. [Online]. Available: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/hivaids-surveillance-europe-2018-2017-data>. [Accessed: 20-Mar-2019].
- [25] Programme on HIV/AIDS joint United Nations. UNAIDS data 2018. 2018. [Online]. Available: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/unaids-data-2018_en. [Accessed: 28-Mar-2019].
- [26] H. Cortes Martins and I. Aldir. VIH e SIDA: a situação em Portugal a 31 de dezembro de 2017. 2018. [Online]. Available: http://repositorio.insa.pt/bitstream/10400.18/5666/5/INSA_Relatorio_VIH_e_SIDA_2017. [Accessed: 29-Mar-2019].
- [27] J. Carter and V. Saunders. *Virology: principles and applications*. Wiley, **2**, 185–196 (2007).
- [28] A. Engelman and P. Cherepanov. The structural biology of HIV-1: Mechanistic and therapeutic insights. *Nat. Rev. Microbiol.* **10**, 279–290 (2012).
- [29] H. L. Robinson. New hope for an aids vaccine. *Nat. Rev. Immunol.* **2**, 239–250 (2002).
- [30] A. B. Ward and I. A. Wilson. The HIV-1 envelope glycoprotein structure: nailing down a moving target. *Immunol. Rev.* **275**, 21–32 (2017).
- [31] AIDSinfo. The HIV Life Cycle. 2018. [Online]. Available: <https://aidsinfo.nih.gov/understanding-hiv-aids/fact-sheets/19/73/the-hiv-life-cycle>. [Accessed: 03-Apr-2019].
- [32] National Institute of Allergy and Infectious Diseases. HIV Replication Cycle. 2018.

- [Online]. Available: <https://www.niaid.nih.gov/diseases-conditions/hiv-replication-cycle>. [Accessed: 30-Mar-2019].
- [33] F. Barré-Sinoussi, A. L. Ross, and J.-F. Delfraissy. Past, present and future: 30 years of HIV research. *Nat. Rev. Microbiol.* **11**, 877–883 (2013).
- [34] A. Melhuish and P. Lewthwaite. Natural history of HIV and AIDS. *Medicine (Baltimore)*. **46**, 356–361 (2018).
- [35] E. J. Arts, D. J. Hazuda, E. F. D. Bushman, G. J. Nabel, and R. Swanstrom. HIV-1 Antiretroviral Drug Therapy. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2**, 1–23 (2012).
- [36] Direção-Geral da Saúde. Norma nº029/2017: Abordagem terapêutica inicial da infeção por vírus de imunodeficiência humana de tipo 1 (VIH-1) no Adolescente e no Adulto. *Normas Direção-Geral da Saúde*. 1–23 (2017).
- [37] R. A. Hughes, J. A. C. Sterne, and R. Gilson. Predicting virological decay in patients starting combination antiretroviral therapy. *AIDS*. **30**, 1817–1827 (2016).
- [38] M. S. Cohen, Y. Q. Chen, M. McCauley, and S. Faesen. Antiretroviral Therapy for the Prevention of HIV-1 Transmission. *N. Engl. J. Med.* **375**, 830–839 (2016).
- [39] FDA. Antiretroviral drugs used in the treatment of HIV infection. 2018. [Online]. Available: <https://www.fda.gov/patients/hiv-treatment/antiretroviral-drugs-used-treatment-hiv-infection>. [Accessed: 12-May-2019].
- [40] A. Robertson. HIV and AIDS Treatment and Care. European AIDS Clinics Society. [Online]. Available: <http://www.europeanaidsclicalsociety.org/55-2>. [Accessed: 14-May-2019].
- [41] AIDSinfo. FDA-Approved HIV Medicines. 2019. [Online]. Available: <https://aidsinfo.nih.gov/understanding-hiv-aids/fact-sheets/21/58/fda-approved-hiv-medicines>. [Accessed: 14-May-2019].
- [42] B. Katzung, S. Masters, and A. Trevor. *Basic and clinical pharmacology*. (2012).
- [43] J. D. Lundgren, A. G. Babiker, F. Gordin, and S. Collins. Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection. *N. Engl. J. Med.* **373**, 795–807 (2015).
- [44] C. Danel, R. Moh, D. Gabillard, A. Badje, C. Babatunde, and G. Chêne. A trial of early antiretrovirals and isoniazid preventive therapy in Africa. *N. Engl. J. Med.* **373**, 808–822 (2015).
- [45] R. M. Gulick. New HIV drugs: 2018 and beyond. *Curr. Opin. HIV AIDS*. **13**, 291–293 (2018).
- [46] Medscape. Retrovir, ZDV (zidovudine). 2019. [Online]. Available: <https://reference.medscape.com/drug/retrovir-zdv-zidovudine-342639#0>. [Accessed: 28-May-2019].
- [47] L. Brunton, J. Lazo, and K. Parker. *The Pharmacological Basis of Therapeutics. Neurology*. **21**, 769–779 (2012).
- [48] Q. F. Fernando Bernal. *Farmacología De Los Antirretrovirales*. *Rev. Médica Clínica*

- Las Condes. **27**, 682–697 (2016).
- [49] W. T. Shearer. HIV Infection and AIDS Medication. *Prim. Care Clin. Off. Pract.* **25**, 759–774 (2005).
- [50] Infarmed. Didanosina. [Online]. Available: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=9172&tipo_doc=fi. [Accessed: 01-Jun-2019].
- [51] Medscape. Videx EC (didanosine). 2019. [Online]. Available: <https://reference.medscape.com/drug/videx-ec-didanosine-342609>. [Accessed: 01-Jun-2019].
- [52] V. Kambham and C. Kothapalli Bonnoth. Development of stavudine sustained release tablets: In-vitro studies. *Futur. J. Pharm. Sci.* **2**, 37–42 (2016).
- [53] Medscape. Zerit (stavudine). [Online]. Available: <https://reference.medscape.com/drug/zerit-d4t-stavudine-342630#0>. [Accessed: 01-Jun-2019].
- [54] Infarmed. Lamivudina. [Online]. Available: http://app7.infarmed.pt/infomed/download_ficheiro.php?med_id=52850&tipo_doc=fi. [Accessed: 01-Jun-2019].
- [55] Medscape. Epivir HBV (lamivudine). [Online]. Available: <https://reference.medscape.com/drug/epivir-hbv-lamivudine-342621#0>. [Accessed: 01-Jun-2019].
- [56] Medscape. Ziagen (abacavir). [Online]. Available: <https://reference.medscape.com/drug/ziagen-abacavir-342600#0>. [Accessed: 01-Jun-2019].
- [57] Medscape. Viread (tenofovir DF). [Online]. Available: <https://reference.medscape.com/drug/viread-tenofovir-df-342633#0>. [Accessed: 03-Jun-2019].
- [58] L. M. Bang and L. J. Scott. Emtricitabine: An Antiretroviral Agent for HIV infection. *Drugs.* **63**, 2413–2424 (2003).
- [59] Medscape. Emtriva (emtricitabine). [Online]. Available: <https://reference.medscape.com/drug/emtriva-emtricitabine-342612#0>. [Accessed: 03-Jun-2019].
- [60] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Ziagen. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/ziagen-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 01-Jun-2019].
- [61] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Viread. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/viread-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 03-Jun-2019].
- [62] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Emtriva. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/emtriva-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 03-Jun-2019].

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

- [63] F. Clavel and A. J. Hance. HIV Drug Resistance. *N. Engl. J. Med.* **350**, 1023–1035 (2004).
- [64] J. P. Barnard, K. D. Huber, and N. Sluis-Cremer. NNRTI Hyper-Susceptibility and Resistance: Mutational Analysis of Residue 181 in HIV-1 Reverse Transcriptase. *Antimicrob. Agents Chemother.* **63**, 676–719 (2019).
- [65] L. S. Dodda, J. Tirado-Rives, and W. L. Jorgensen. Unbinding Dynamics of Non-Nucleoside Inhibitors from HIV-1 Reverse Transcriptase. *J. Phys. Chem. B.* **123**, 1741–1748 (2019).
- [66] U. Caixas, A. M. M. Antunes, A. T. Marinho, and A. L. A. Godinho. Evidence for nevirapine bioactivation in man: Searching for the first step in the mechanism of nevirapine toxicity. *Toxicology.* **301**, 33–39 (2012).
- [67] A. C. Street and I. Thevarajan. Efavirenz. *Clin. Rev. Antibacterial, Antifung. Antiparasit. Antivir. Drugs.* **56**, 3907–3958 (2017).
- [68] M. P. Béthune. Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs), their discovery, development, and use in the treatment of HIV-1 infection: A review of the last 20 years (1989-2009). *Antiviral Res.* **85**, 75–90 (2010).
- [69] D. S. Schiller and M. Youssef-Bessler. Etravirine: A second-generation nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI) active against NNRTI-resistant strains of HIV. *Clin. Ther.* **31**, 692–704 (2009).
- [70] M. Schöller-Gyüre, T. N. Kakuda, A. Raoof, G. De Smedt, and R. M. W. Hoetelmans. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of etravirine. *Clin. Pharmacokinet.* **48**, 571–574 (2009).
- [71] J. Portilla and V. Estrada. Mecanismo de acción y farmacocinética de rilpivirina. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* **31**, 2–5 (2013).
- [72] C. James, L. Preininger, and M. Sweet. Rilpivirine: A second-generation nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor. *Am. J. Heal. Pharm.* **69**, 857–861 (2012).
- [73] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Viramune. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/viramune-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 07-Jul-2019].
- [74] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Sustiva. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/sustiva-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 07-Jul-2019].
- [75] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Intelence. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/intelence-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 07-Jul-2019].
- [76] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Edurant. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/edurant-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 07-Jul-2019].

- information/edurant-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 15-Jul-2019].
- [77] J. Ren, J. Milton, K. L. Weaver, S. A. Short, D. I. Stuart, and D. K. Stammers. Structural basis for the resilience of efavirenz (DMP-266) to drug resistance mutations in HIV-1 reverse transcriptase. *Structure*. **8**, 1089–1094 (2000).
- [78] C. Flexner. HIV protease inhibitors. *N. Engl. J. Med.* **338**, 1–4 (2011).
- [79] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Inivirase. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/inivirase-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 17-Jul-2019].
- [80] S. Kravcik. Pharmacology and clinical experience with saquinavir. *Expert Opin. Pharmacother.* **2**, 303–315 (2001).
- [81] M. Boffito, A. Jackson, A. Pozniak, and M. Giraudon. Effect of a Modified Saquinavir/Ritonavir Dosing Regimen with Lower Dose Lead-In Phase on QTc Interval, Pharmacokinetics, Antiviral Activity and Safety in Treatment-Naive HIV-1-Infected Patients. *Drugs R D.* **15**, 141–153 (2015).
- [82] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Crixivan. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/crixivan-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 02-Aug-2019].
- [83] S. D. Zucker, X. Qin, S. D. Rouster, F. Yu, and K. E. Sherman. Mechanism of indinavir-induced hyperbilirubinemia. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **98**, 12671–12676 (2001).
- [84] A. H. Corbett, M. L. Lim, A. D. M. Kashuba, W. T. Maldonado, and M. Larouche. Kaletra (lopinavir/ritonavir). *Ann. Pharmacother.* **36**, 1193–1203 (2002).
- [85] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Lopinavir/Ritonavir. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/lopinavir/ritonavir-mylan-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 17-Jul-2019].
- [86] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Reyataz. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/reyataz-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 17-Jul-2019].
- [87] M. Alvarellos, C. Guillemette, R. B. Altman, and T. E. Klein. PharmGKB summary: Atazanavir pathway, pharmacokinetics/pharmacodynamics. *Pharmacogenet. Genomics.* **28**, 127–137 (2018).
- [88] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Aptivus. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/aptivus-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 17-Jul-2019].
- [89] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Prezista. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/prezista-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 17-Jul-2019].
- [90] S. Algeelani, N. Alam, M. A. Hossain, G. Mikus, and D. J. Greenblatt. In vitro

- inhibition of human UGT isoforms by ritonavir and cobicistat. *Xenobiotica*. **48**, 764–769 (2018).
- [91] R. Kim and J. D. Baxter. Protease Inhibitor Resistance Update: Where Are We Now?. *AIDS Patient Care STDS*. **22**, 267–277 (2008).
- [92] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Fuzeon. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/fuzeon-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 21-Jul-2019].
- [93] CHMP-EMA. RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO: Celsentri. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/celsentri-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 21-Jul-2019].
- [94] D. J. McColl and X. Chen. Strand transfer inhibitors of HIV-1 integrase: Bringing IN a new era of antiretroviral therapy. *Antiviral Research*. **85**, 101–118 (2010).
- [95] J. Grawenhoff and A. N. Engelman. Retroviral integrase protein and intasome nucleoprotein complex structures. *World J. Biol. Chem.* **8**, 32 (2017).
- [96] A. Engelman and P. Cherepanov. Retroviral Integrase Structure and DNA Recombination Mechanism. *Am. Soc. Microbiol.* **2**, 1011–1033 (2015).
- [97] K. Anstett, B. Brenner, T. Mesplede, and M. A. Wainberg. HIV drug resistance against strand transfer integrase inhibitors. *Retrovirology*. **14**, 36 (2017).
- [98] A. T. Podany, K. K. Scarsi, and C. V Fletcher. Comparative Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of HIV-1 Integrase Strand Transfer Inhibitors. *Clin. Pharmacokinet.* **56**, 25–40 (2017).
- [99] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Tivicay. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/tivicay-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 22-Jul-2019].
- [100] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Isentress. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/isentress-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 22-Jul-2019].
- [101] A. Melzani, B. Ntab, and L. Epelboin. Incidence and Trends in Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome Associated With *Histoplasma capsulatum* Among People Living With Human Immunodeficiency Virus: A 20-Year Case Series and Literature Review. *Clin. Infect. Dis.* (2019).
- [102] R. Krishna, M. L. Rizk, P. Larson, V. Schulz, F. Kesisoglou, and R. Pop. Single- and Multiple-Dose Pharmacokinetics of Once-Daily Formulations of Raltegravir. *Clin. Pharmacol. Drug Dev.* **7**, 196–206 (2018).
- [103] M. M. Miller, K. K. Kinney, and M. D. Liedtke. Virologic failure of high-dose raltegravir with concomitant rifampin. *Infect. Dis. Clin. Pract.* **25**, 168–170 (2017).
- [104] A. Fun, T. Leitner, M. Däumer, and A. Thielen. Impact of the HIV-1 genetic background and HIV-1 population size on the evolution of raltegravir resistance. *Retrovirology*. **15**, 1 (2018).

Enzima integrase: um alvo terapêutico validado para o desenvolvimento de fármacos antirretrovirais.

- [105] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Stribild. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/stribild-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 24-Aug-2019].
- [106] EMA. Vitekta. 2017. [Online]. Available: www.ema.europa.eu/contact. [Accessed: 24-Jul-2019].
- [107] CHMP-EMA. Resumo das Características do Medicamento: Vitekta. [Online]. Available: https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/vitekta-epar-product-information_pt.pdf. [Accessed: 24-Aug-2019].
- [108] A. M. Wensing, V. Calvez, F. Ceccherini-Silberstein, C. Charpentier, R. Paredes, and R. W. Shafer. 2019 update of the drug resistance mutations in HIV-1. *Top. Antivir. Med.* **27**, 1–9 (2019).
- [109] J. L. Blanco, A. G. Marcelin, C. Katlama, and E. Martinez. Dolutegravir resistance mutations: Lessons from monotherapy studies. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **31**, 237–245 (2018).
- [110] FDA. Tivicay- Tablets for oral use. 2013. [Online]. Available: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/204790lbl.pdf. [Accessed: 25-Aug-2019].
- [111] D.-Y. Lu, H.-Y. Wu, N. S. Yarla, B. Xu, J. Ding, and T.-R. Lu. HAART in HIV/AIDS Treatments: Future Trends. *Infect. Disord. Drug Targets.* **18**, 15–22 (2017).
- [112] R. Margalho, M. Pereira, S. Ouakinin, and M. C. Canavarro. Adherence to HAART, quality of life and psychopathological symptoms among HIV/AIDS infected patients. *Acta Med. Port.* **24**, 539–548 (2011).
- [113] C. Guerreiro, I. Aldir, J. Oliveira, K. Mansinho, and L. Marques. Recomendações Portuguesas para o tratamento da infeção por VIH-1 e VIH- 2. Programa Nac. para a Infecção VIH/SIDA. **1**, 1–46 (2016).
- [114] C. Trezza, S. L. Ford, W. Spreen, R. Pan, and S. Piscitelli. Formulation and pharmacology of long-acting cabotegravir. *Curr. Opin. HIV AIDS.* **10**, 239–245 (2015).
- [115] T. D. McPherson, M. E. Sobieszczyk, and M. Markowitz. Cabotegravir in the treatment and prevention of Human Immunodeficiency Virus-1. *Expert Opin. Investig. Drugs.* **27**, 413–420 (2018).
- [116] A. Markham. Bictegravir: First Global Approval. *Drugs.* **78**, 601–606 (2018).
- [117] V. Spagnuolo, A. Castagna, and A. Lazzarin. Bictegravir. *Curr. Opin. HIV AIDS.* **13**, 326–333 (2018).